Pr

EXD.

Junho, Setembro e Dezembro de 1955

Tomo 53

Fascículos 2-3 e 4

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
27 SEP 1956
SERIAL C.S.A.7
SEPARATE

MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1 9 5 5

SERVIÇO GRÁFICO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA

RIO DE JANEIRO

As **MEMÓRIAS**, órgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, são reservadas, exclusivamente, à publicação de trabalhos nêle realizados, e aparecerão em fascículos distintos, de um a quatro, ou em tomos completos, conforme as conveniências editoriais.

Tôda a correspondência deverá ser dirigida à:

Redação das Memórias do Instituto Oswaldo Cruz
Caixa Postal 926 – Endereço Telegráfico: "Manguinhos" Rio
Rio de Janeiro – Brasil

Junho, Setembro e Dezembro de 1955

Tomo 53

Fascículos 2-3 e 4

MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

RIO DE JANEIRO
SERVIÇO GRÁFICO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
1955

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/memorias-do-instituto-oswaldo-cruz_june-december-1955_53_2-4

Índice

Tomo 53 Ano 1953 Fascículos 2 - 3 e 4

Páginas

NERY-GUIMARÃES, F. — Notas bio-bibliográficas do Prof. Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão, Diretor Emérito do Instituto Oswaldo Cruz 144

BEAUREPAIRE ARAGÃO, HENRIQUE DE — Über den Entwicklungsgan und die Übertragung von *Haemoproteus columbae* 157

OLIVEIRA, LEJEUNE DE, NASCIMENTO, RUBEM, KRAU, LUIZA & MIRANDA, ARNALDO — Observações biogeográficas e hidrobiológicas sôbre a lagôa de Maricá 171

Biogeographic and Hydrobiologic Observations on the Lake of Maricá 228

OLIVEIRA, LEJEUNE DE — Sôbre a lei da concentração das lagunas e sua aplicação no caso da Lagôa Rodrigo de Freitas 263

PARAENSE, W. LOBATO — Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus* 277

Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus* 285

MAGALHÃES, OCTAVIO DE — Contribuição para o conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático do Brasil 293

MAGALHÃES, OCTAVIO DE — Ensaios de micologia 301

OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE — *Phoxocephalus capuciatus*, nova espécie de *Crustacea Amphipoda, Phoxocephalidae* 313

PARAENSE, W. LOBATO & DESLANDES, NEWTON — Isolamento reprodutivo entre *Australorbis glabratus* e *A. nigricans* 321

Reproductive isolation between *Australorbis glabratus* and *A. nigricans* 325

LIEBERMANN, JOSÉ — Primeira relação sistemática dos Acridoideos do Brasil 329

OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE — Descrição e análise geométrica de *Autonoe conicurvae*, nova espécie de crustáceo (*Amphipoda, Acridae*) 345

BRADE, A. C. — Espécies Novas do Herbario do Dr. Adolpho Lutz Melastomataceae: Tibouchina Lutzii Brade n. sp. 353

BARROSO, GRAZIELA MACIEL — Compositae: Mutisia Lutzii G. M. Barroso n. sp. 357

PABST, GUIDO F. J. — Orchidaceae Lutzianae 359

TORRES, C. MAGARINOS & ALMEIDA CARDOSO, RITA A. DE — Transplantação de baço de coelho com mixoma infeccioso na câmara anterior do ôlho da cobaia. Sôbre a degeneração mixomatosa. Inclusões intranucleares 367

Páginas

SOUZA-ARAUJO, H. C. DE — Morfologia do *Mycobacterium leprae hominis* e do *M. leprae muris*. Estudo baseado na microscopia electrônica e de contraste de fases 389
Abstract — Morphology of *Mycobacterium leprae hominis* and *M. leprae muris* based on electron and phases contrast microscopy 395

GONÇALVES, N. BOTAFOGO & SOARES, ROSTAN DE ROHAN LOUREIRO — Atividade moluscócida do ricinoleato de cobre 397
Molluscocide action of the cupric ricinoleate 404

PARAENSE, W. LOBATO — A descoberta da Esquizogonia do Halterídio do Pombo e sua influência na evolução da Protozoologia 411
The discovery of the schizogony cycle in the pigeon's halteridium and its influence on the advancement of protozoology 416

COSTA LIMA, A. DA & SEABRA, C. A. CAMPOS — Notas sôbre Rinastus e Homalinotus (*Col. Curcul. Colinae*) 421

OLIVEIRA, LEJEUNE DE & KRAU, LUIZA — Observações biogeográficas durante a abertura da Barra da Lagoa de Saquarema 435

DIAS, EMANUEL — Variações mensais da incidência das formas evolutivas do *Triatoma Infestans* e do *Panstrongylus Megistus* no Município de Bambuí, Estado de Minas Gerais 457

DIAS, EMMANUEL & ZELEDÓN, RODRIGO — Infestação domiciliária em grau extremo por *Triatoma Infestans* 473

RIBEIRO, LUIZ P., MITIDIERI, EMÍLIO & VILLELA, GILBERTO G. — Paper electroporetic and enzimatic studies on blood serum, venom and liver of "Bothrops jararaca" 487

POVOA Jr., HELION — The ribonucleic acid content of some mammalian erythrocytes 499

ABREU, LUIZ AUGUSTO DE & ABREU, REGINA RAPOSO DE — On the determination of reducing corticosteroids 503

TORREALBA, JOSÉ FRANCISCO, VÁZQUEZ, ANGEL DÍAZ, RODRÍGUEZ, IBRAHIM REYES, GONZÁLEZ, DOMINGO & TORREALBA, ANA ISABEL — Algunas consideraciones sobre la enfermedad de hematies falciformes en Venezuela 509

MELLO, R. PIMENTA DE, MELLO, L. PIMENTA & PEREZ, A. — Identificação de cogumelos patogênicos por meio da coloração ácido periódico-Schiff 519

CORRÊA F.º, JOÃO CANALI & GODOY, OSWALDO TARCISIO — Presença de substâncias fisiològicamente ativas em culturas de E. Coli isolados das fezes de pacientes alérgicos pela técnica de Heist-Cohen 529

LACORTE, J. GUILHERME, MONTEIRO, ESTACIO & LOURES, J. CARVALHO — Resistência do vírus da gripe à ação oligodinâmica da prata 537

MELLO, M. I. & QUEIROGA, LAURA T. — Considerações sôbre a técnica de determinação do "índice Lipásico Seabra" 545

PACHECO, GENESIO, ELEJALDE, PAULO & SCHLÖGEL, FRIDOLIN — Alterações neuropatológicas pela toxina brucelosa 557
Neuropatologic lesions of the brucella toxin 561

VILLELA, GILBERTO G., AFFONSO, OTTILIA R. RIBEIRO, LUIZ P. & MITIDIERI EMILIO — Distribuição da xantina oxidase no fígado e sôro de rato 563

LIMA, F. D. GARCIA DE — Osteopatia tóxica hipertrófica associada a mixocondrosarcoma Pulmonar metastático: descrição de um caso 573

LUTZ, BERTHA — A Botânica no Instituto Oswaldo Cruz 589

SANTOS, MARIO & MUTH, HANS — Alguns aspectos citológicos da Leptospira Icterohaemorrhagiae em microscópio eletrônico 601

PEREIRA FILHO, M. J., & NERY-GUIMARÃES, F. — Mitsuda's Reactions. Induced by BCG in the normal Rhesus ("Macaca mulatta") ... 609

Prof. Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Reprodução do quadro a óleo de D. Ismaelovitch, 1949

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 53 Fascículos 2-3 e 4 Junho a Dezembro de 1955

Êste Volume das Memórias do Instituto Oswaldo Cruz é publicado em homenagem ao Professor Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão, por ocasião do qüinquagésimo aniversário de suas atividades oficiais.

Iniciou o Dr. Aragão sua carreira científica em 1903, como estagiário, ao lado de Oswaldo Cruz, cuja brilhante trajetória então começava. Em mais de cinqüenta anos de labor científico, espraiou o Dr. Henrique Aragão seu espírito curioso sôbre variados setores da Biologia. Suas contribuições em Protozoologia e em Vírus, foram pioneiras em nosso meio, merecendo especial realce sua descoberta do ciclo evolutivo do *Haemoproteus columbae*, e a descrição dos corpúsculos do alastrim, da varicela e do mixoma dos coelhos. Dedicou-se, também, à sistemática dos ixodídeos, descrevendo várias espécies novas e verificando a existência de multiplicação partenogenética nestes acarianos, um fato até então ainda não verificado. Ao cabo de tantos anos dedicados à ciência, passados todos êles, pode dizer-se, no quadro esplêndido do Instituto Oswaldo Cruz, continua o Dr. Henrique Aragão suas pesquisas, com o mesmo interêsse dos primeiros anos, servindo à Instituição que ajudou a criar e a projetar no cenário científico mundial.

Manguinhos, 20 de setembro de 1955.

Antônio Augusto Xavier

Notas bio-bibliográficas do Prof. Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão, Diretor Emérito do Instituto Oswaldo Cruz*

pelo

Dr. **F. Nery-Guimarães**

O Dr. H. B. Aragão nasceu em 21 de dezembro de 1879, à rua da Praia, em Niterói (Estado do Rio de Janeiro). Há muito a abertura de uma avenida sacrificou a casa onde nasceu. Foram seus pais o Dr. Francisco Pires de Carvalho Aragão e D. Elisa de Beaurepaire Rohan Aragão. Fêz estudos de humanidades no Rio de Janeiro, no Instituto Dr. João Kopke e no Externato do Ginasio Nacional, hoje Colégio Pedro II, onde os concluiu em fins de 1898. Diplomou-se em 1904, pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Ainda estudante, no 5.º ano médico, ingressou em Manguinhos, como estagiário (1903). Lá fôra levado por Waldemar Schiller, seu amigo e colega, que já freqüentava o Instituto e o apresentou a Oswaldo Cruz. Desde essa época, Aragão vinculou-se ao Instituto; nêle fazendo sua tése de doutoramento, que defendeu em 1905, entrando, então, oficialmente para a instituição como Assistente.

Falar de Henrique Aragão é, também, falar da história de Manguinhos, pois foi êle um dos poucos que lá chegaram na hora primeira. Cercando a figura ímpar de Oswaldo, estavam Figueiredo Vasconcellos, Rocha Lima, Carlos Chagas, Ezequiel Dias, Cardoso Fontes, Alcides Godoy e Henrique Aragão. Logo em seguida chegavam Arthur Neiva e Gomes de Faria. Outros sábios ilustres chegaram depois.

Naquela época para tão poucos, era imensa a tarefa a cumprir. Mas, o entusiasmo de todos e o desejo de cada um de corresponder à confiança do Mestre, operavam milagres. Naquela velha e acanhada casa da Fazenda de Manguinhos, quase em ruínas, só havia dois laboratórios para o trabalho em comum, dois microscópios e o material estritamente necessário. Apesar disso, tudo corria bem, e Aragão logo se adaptou às atividades da nova Escola de Medicina Experimental. Era um grupo de jovens a quem os costumes da época — e mais do que isso, o idealismo e o sentido de uma tarefa nobilitante — davam a aparência de homens maduros. O Mestre contava 30 anos, e menos idades tinham os discípulos.

* Recebido para publicação a 26-8-1955, com uma fotografia.

De início, não havia ambiente para estritas especulações e Aragão, como os demais, se ocupava um pouco de tudo que dizia respeito aos serviços técnicos do Instituto. Ao mesmo tempo que realizava suas primeiras investigações científicas, fazia bacteriologia geral, preparava sôros e vacinas, estudava espiroquetas e protozoários de vida livre e sanguícolas, classificava carrapatos transmissores de doenças ou apenas parasitos e investigava os corpúsculos dos virus, naquela época bem pouco credenciados, nem de longe se suspeitando da importância que iriam ter na nosologia moderna. Tratando, assim, de tão variados assuntos, adquiriu Aragão uma ampla vista panorâmica em vários campos da biologia e, particularmente, da microbiologia, dando à publicidade vários trabalhos científicos. Data dessa época a sua descoberta do ciclo do *Haemoproteus columbae,* trabalho magistral que contrariava as idéias de Schaudinn — a máxima autoridade científica de então — e cuja repercussão na protozoologia foi tamanha, a ponto de podermos considerá-lo como o marco inicial da descoberta do ciclo exoeritrocitário dos plasmódios.

Da importância do trabalho que realizava êsse grupo de jovens pesquisadores, orientados por Oswaldo Cruz, soube-o o país quando da Exposição Internacional de Berlim, em 1907. Tal foi o sucesso do Brasil, que lhe foi conferido o máximo laurel. Nessa exposição foram mostradas as realizações de Oswaldo no campo da saúde pública e os primeiros trabalhos científicos de Manguinhos.

Foi então, quando sábios europeus se interessaram pelo novo Instituto e pelo campo de pesquisa que representava o nosso país, e a convite de Oswaldo Cruz vieram a Manguinhos Prowazek, Hartmann, Giemsa e outros abalisados mestres da medicina experimental.

Aragão colaborou com Prowazek durante os seis meses que êsse grande pesquisador estêve no Brasil. E, quando do seu retôrno à Europa em fevereiro de 1909, acompanhou-o em viagem de aperfeiçoamento. No velho continente, estudou na Alemanha, no Instituto Zoológico de Munique, dirigido por R. Hertwig, e sob a orientação de R. Goldschmidt. Estudou também na Estação de Hidrobiologia Marinha de Villefranche, dirigida por Davidoff e, de volta ao Brasil, em setembro de 1910, retornou ao seu trabalho de Manguinhos, onde se encontra até hoje.

Se pudéssemos retrogradar no tempo, seria interessante agora, nesta época de grandes progressos quimioterápicos e imunobiológicos, reportarmo-nos àquela fase pioneira do princípio do século.

Veríamos Aragão preparando sua vacina contra a espiroquetose das aves, e empregando pela primeira vez o formol como esterilizante de vacinas. A técnica nos trouxe grandes aperfeiçoamentos, sem dúvida, mas o formol continua em uso, sendo interessante assinalar o seu emprêgo, ainda hoje, em vacinas antitíficas e na moderna anti-polio de Salk.

As incursões de Aragão na nascente virologia, levaram-no a determinar os agentes etiológicos do alastrim, da varicela e do mixoma dos coelhos, assim como a transmissão desta última doença pelas pulgas. Mais tarde, no estudo do virus amarílico, muito trabalhou. Estabeleceu a

identidade dos virus africano e americano; imaginou a prova de proteção em *Rhesus* para o diagnóstico retrospectivo da febre amarela, o qual de início foi o empregado em trabalhos epidemiológicos no Brasil; verificou que a transmissão da moléstia estava relacionada às condições de vida dos transmissores, exigindo o *Aedes aegypti* temperatura mais elevada para permitir a evolução do virus, ao contrário dos mosquitos silvestres, adaptados às temperaturas mais baixas das matas.

Na protozoologia, de cuja seção foi o organizador em Manguinhos, pesquisou vários setores, descrevendo novas espécies de amebas e outros protozoários, assim como as formas evolutivas dos gametas do *Plasmodium falciparum*. Em 1921, verificou a transmissão da leishmaniose muco- cutânea pelo *Phlebotomus intermedius*, no Brasil, assunto que, nesse tempo, também era investigado em vários centros de Medicina experimental, para outras espécies dêsses psicodideos. Estudou, ainda, Aragão os *Ixodídeos*, descrevendo várias espécies novas e verificando a existência de multiplicação por partenogenese nesses acarianos. Pesquisou o ciclo evolutivo dos *Blastocystis*, confirmando e ampliando as verificações de Alexeieff sobre a sua natureza blastomicetica, sem relação alguma portanto com os flagelados, como admitiram vários autores.

Da sua personalidade de mestre ressalta, sobretudo, a capacidade de estimular os jovens de Manguinhos, que dêle se aproximam para ouvir conselhos ditados por uma longa experiência nos campos da biologia; e nada o alegra tanto como sentir nesses moços uma decidida vocação para a investigação científica. Notável também — hoje como outrora — é o seu interêsse por tudo que diz respeito a Manguinhos; interêsse que vae dos laboratórios e biotérios de criação de animais de experiência, ao parque botânico, quase todo por êle organizado, e com cuja maioria de exemplares está familiarizado.

A investigação científica pura conduz, não raro, o pesquisador a encontrar soluções de alto valor prático para dados problemas. Assim é que Aragão, no decurso de suas pesquisas sôbre a mixomatose dos coelhos, impressionado com a ação letal dessa doença para êsses roedores, vislumbrou a possibilidade do seu emprêgo como arma biológica de combate ao bilhão ou mais de coelhos que, destruiam impiedosamente as pastagens e culturas agrícolas na Austrália, afetando profundamente a economia agropecuária dêsse continente. Depois de uma série de experiências que robusteceram sua opinião a respeito do possível sucesso dessa luta biológica, dirigiu-se Aragão às autoridades competentes do Commonwealth da Austrália. Sugeriu-lhes a luta biológica contra a praga dos coelhos, com o uso da mixomatose, de vez que todos os demais meios de destruição dêsses animais, usados até então, não davam resultados suficientemente eficazes. A sugestão de H. Aragão foi aceita pelas autoridades australianas, às quais mandou o virus da mixomatose. Longos anos se passaram, porém, antes que os resultados das experiências com êsse virus viessem coroar as esperanças depositadas na mixomatose. Não desanimaram, porém, os australianos, nem H. Aragão perdia a confiança no sucesso da sua sugestão. Êste chegou, finalmente, e de modo espetacular,

a partir de 1950, quando surgiu na Australia uma incrível epizootia de mixomatose, que tão mortífera quão ràpidamente se disseminou por centenas de milhares de milhas quadradas do seu território leste e sul. Essas mortíferas epizootias vem se repetindo no verão quando abundam os insetos sugadores de sangue, que são seus principais veiculadores. Avalia-se que em conseqüência delas já foram destruídos cerca de três quartos da população de coelhos da Austrália e a agricultura tomou novo surto. Calcula-se que com esta destruição maciça de coelhos a Austrália já ganhou dezenas de milhões de libras esterlinas. E, assim, mais uma vez, uma investigação científica de caráter puramente especulativo abriu caminho para a solução de um problema de grande valor prático para a economia de um povo.

No seu longo período de vida, Henrique Aragão viu o Instituto Oswaldo Cruz crescer do quase nada, até se tornar a grandiosa instituição que hoje representa — uma verdadeira universidade científica, com cêrca de 150 pesquisadores e dezenas de seções que se ocupam dos mais variados assuntos da Microbiologia, Zoologia Médica, Hidrobiologia, Botânica Médica, Fisiologia, Protozoologia, Química, Endocrinologia, Higiene, Doenças Tropicais, Patologia, Micologia, Hematologia, Virologia e Riquetsioses, além de produzir amplamente sôros e vacinas e ministrar vários cursos de especialização.

Iniciando sua carreira em Manguinhos, como estagiário, Aragão passou a Assistente e a Chefe de Serviço e, mais tarde, a Biologista com as vantagens de Professor das Universidades Federais. Por fim, exerceu o cargo de Diretor do Instituto (1942-1949). Em 1950, aposentou-se por limite de idade. Como um dos fundadores do Instituto, foi-lhe conferido, por Decreto do Govêrno, o título de Professor do Instituto Oswaldo Cruz e, após sua aposentadoria, recebeu ainda o título de Diretor Emérito do Instituto Oswaldo Cruz, por Decreto do Presidente Getúlio Vargas e do Ministro Miguel Couto Filho.

Durante sua gestão de 7 anos como Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, conseguiu H. Aragão quintuplicar suas verbas, instalar divisões e seções científicas e técnicas, aumentar muito o número de pesquisadores, organizar centros para o estudo da moléstia de Chagas, em Minas Gerais, para investigações sôbre bouba, no Estado do Rio e para a profilaxia da esquistossomose, em Pernambuco. Promoveu, ainda, numerosas excursões científicas para estudos de hidrobiologia marinha, zoologia e botânica médicas, para investigações nosológicas, ecológicas e epidemiológicas diversas.

Ainda nesse período, promoveu a construção no Instituto de um amplo hospital e grandes prédios para as Divisões de Patologia e de Higiene e para as seções de Endocrinologia e Hematologia, para os Cursos, para estudos de Biologia, para Refeitório do pessoal, levantou novos andares no pavilhão de química e no biotério, além de instalações novas ou ampliações nas oficinas e outros serviços auxiliares do Instituto.

Henrique Aragão dirigiu o Serviço Especial de Febre Amarela de São Paulo (1937-1938); fêz parte do Conselho Econômico do Estado do Rio de Janeiro, durante a Interventoria do Comandante Ary Parreiras;

foi membro do Conselho Técnico da Prefeitura do Distrito Federal, quando Prefeito o Dr. Pedro Ernesto; e fêz parte do Conselho Central da Fundação da Casa Popular. Durante três anos foi Vice-Presidente do Instituto Brasileiro de Educação, Ciência e Cultura (IBECC), órgão governamental ligado à UNESCO. Presentemente é membro do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, e foi Chefe da Seção de Etiopatogenia da Lepra, do Centro Internacional de Leprologia.

Aragão representou o Instituto Oswaldo Cruz em vários congressos médicos e de higiene e foi Presidente da Comissão Organizadora do V Congresso Internacional de Microbiologia (1950).

Foi Professor dos Cursos do Instituto Oswaldo Cruz por muitos anos, assim como Professor do Curso de Malária da Fundação Rockefeller e do Curso de Saúde Pública do Ministério da Educação e Saúde.

Em Manguinhos, foi o organizador da Seção de Protozoologia e da Estação de Hidrobiologia Marinha (Ilha do Pinheiro).

Henrique Aragão é detentor da medalha Nocht, conferida pelo Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo, por seus trabalhos sôbre Medicina Tropical. Possui, também, a Comenda da Cruz Vermelha Alemã, por seus méritos científicos, e faz parte de numerosas sociedades científicas nacionais e internacionais.

Suas publicações no Brasil e no estrangeiro excedem a cento e cinqüenta.

Aposentado há 5 anos, continua trabalhando em seu laboratório em Manguinhos, fiel ao lema de seu Mestre: "Nada resiste ao Trabalho". E a quem o vê, hoje, curvado ao microscópio, como há meio século, ocorre o pensamento de que, às vêzes, o Homem vence o Tempo...

Lista das Sociedades Científicas às quais pertence o Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Membro de Honra da Societé de Pathologie Exotique de Paris
Membro Correspondente da Société de Biologie de Paris
Membro Correspondente da Société Belge de Médicine Tropicale
Membro Honorário da Academia Nacional de Medicina
Membro Honorário da Academia Nacional de Medicina Militar
Membro Honorário da Sociedade Brasileira de Entomologia
Presidente de Honra da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência
Membro Honorário da Sociedade Brasileira de Patologia
Membro da Sociedade Argentina de Patologia y Epidemiologia
Membro da Sociedade Brasileira de Higiene
Membro da Sociedade Brasileira de Biologia
Membro da Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene de Londres
Membro da Society of American Bacteriologists
Membro da Sociedade Entomológica do Brasil

RELAÇÃO DOS TRABALHOS PUBLICADOS PELO DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

1) Ensaios de sôrotherapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis.
Tése — Rio — 1905.
2) Nova tecnica para o diagnostico da "peste".
(com Lima, H. de Rocha)
Annuario do Brazil-Medico, 1906.
3) Sobre o cyclo evolutivo no halteridio do pombo.
Brazil-Medico, 1907, Anno 21, pp. 141 e 301.
4) Untersuchungen ueber die Variola.
(com Prowazek)
Muench. med. Wochenschr. 1908, Jahr. 55, pp. 2265-2266.
5) Ueber den Entwicklungsgang und die Uebertragung von *Haemoproteus columbae*.
Archiv f. Protistenk., 1908 Bd. 12, pg. 157.
6) Algumas novas especies de carrapatos brazileiros: — *Haemaphysalis kochi, Amblyomma lutzi, A. brasiliensis, A. parvum*.
Brazil-Medico, 1908, Anno 22, pp. 111.
7) Mais um novo carrapato brazileiro: — *Amblyomma pseudo-concolor*.
Brazil-Medico, 1908, Anno 22, pp. 431.
8) Sobre o cyclo evolutivo e a transmissão do *Haemoproteus columbae*.
Rev. Med. de S. Paulo, 1908, Anno 11, n.º 20, pp. 416.
9) Weitere Untersuchungen ueber *Chlamydosoen*.
(com Prowazek)
Muench. med. Wochenschr. 1909. Jahr. 56, pp. 645-646.
10) Mais uma espécie de carrapato brazileiro: — *Amblyomma mantiquirense*.
Brazil-Medico 1908, Anno 22, pp. 431-432.
11) Relatorio a respeito dos trabalhos executados na invernada dos Affonsos na Brigada Policial, apresentado ao Dr. Oswaldo Cruz, 1909, 10 de Junho.
12) Sobre a *Amoeba diplomitotica* n. sp., Contribuição para o estudo da divisão nuclear nas amebas.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1909, T. 1, pp. 33-42.
13) Contribuição para o estudo dos parasitas intraglobulares dos Lacertidas. *Plasmodium diploglossi* n. sp.; *Plasmodium tropiduri*, n. sp.
(com Neiva, Arthur)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1909, T. 1, pp. 44-50.
14) Estudos sobre a variola.
(com Prowazek, S. von)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1909, T. 1, pp. 147-158.
15) Pesquizas sobre a *Polytomella agilis* n. g., n. sp.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1910, T. 2, pp. 42-57.
16) A proposito do alastrim. (Comunicação preliminar)
Brazil-Medico, 1911, Anno 25, pp. 101-103.
17) Sorotherapia e vaccinação na espiroquetose das gallinhas.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1911, T. 3, pp. 3-39.
18) Observações sobre algumas hemogregarinas das aves.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, T. 3, pp. 54-64.
19) Notas sobre Ixódidas brazileiros.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1911, T. 3, pp. 145-194.
20) Estudos sobre alastrim.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz,, 1911, T. 3, pp. 309-319.
21) Sobre o microbio do myxoma dos coelhos.
Brazil-Medico, 1912, Anno 26, pp. 471-473.
22) Sobre uma nova entamoeba humana (*Entamoeba braziliensis* n. sp.).
Brazil-Medico, 1912, Anno 26, pp. 61-62.
23) Sobre o "*Granuloma venereum*" e o seu microbio (Nota prévia).
(com Vianna, Gaspar)
Brazil-Medico, 1912, Anno 26, pp. 283-285.

24) Nota sobre Ixódidas collecionadas durante a expedição do Snr. Coronel Rondon nos Estados de Goyaz e Matto Grosso, pelo Snr. Dr. Murillo de Campos, medico da expedição.
Brazil-Medico, 1912, Anno 26, pp. 428-430.
25) Contribuição para a systematica e biologia dos Ixódidas. Partenojenese em carrapatos. *Amblyomma agamum* n. sp.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1912, T. 4, pp. 96-118.
26) Noticia sobre o *"Nyctotherus cordiformis"* Stein.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1912, T. 4, pp. 125-129.
27) Sobre o tratamento do *"Granuloma venereum"* pelo tartaro emetico. (com Vianna, Gaspar)
Brazil-Medico, 1913, Anno 27, pp. 41-42.
28) Sobre um novo treponema encontrado em ulceras: *Treponema minimum* n. sp.
(com Vianna, Gaspar)
Brazil-Medico, 1913, Anno 27, pp. 61-62.
29) Pesquizas sobre a natureza dos anaplasmas.
(com Dias, Ezequiel)
Brazil-Medico, 1913, Anno 27, pp. 151-153.
30) Nota sôbre as schizogonias e gametogonias dos trypanosomas.
Brazil-Medico, 1913, Anno 27, pp. 271-272.
31) Pesquizas sobre o *"Granuloma venereum"*.
(com Vianna, Gaspar)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1913, T. 5, pp. 211-236.
32) Nota sobre algumas colleções de carrapatos brazileiros.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1913, T. 5, pp. 263-270.
33) Sobre a *Entamoeba brasiliensis*.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1914, T. 6, pp. 5-10.
34) Pesquizas sobre a natureza dos anaplasmas.
(com Dias, Ezequiel)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1914, T. 6, pp. 231-245.
35) Dr. S. Von Prowazek. Necrologia.
Arch. Bras. Med., Rio 1915, Anno 5, pp. 167-169.
36) Ixódidas. Relatório n.º 27 da Commissão Rondon, 1916.
37) *Copromastix prowazeki* n. g. n. sp. (nota prévia).
Brazil-Medico, 1916, Anno 30, pp. 49.
38) Pesquizas sobre o *"Haemoproteus columbae"*.
Brazil-Medico, 1916, 30, Nos. 45 e 46, pp. 353 e 36.
39) Considerações sobre o papel dos mosquitos na transmissão da lepra.
1.ª Conferencia Sul-Amer. Hyg. Microb. & 1916, p. 125.
40) Pesquizas sobre o *Copromastix prowazeki* n. g., n. sp.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1916, 8, n.º 2, pp. 64-67.
41) Algumas observações relativas ás endamebas dysentericas.
Brazil-Medico, 1917, 31, n.º 13 e 14, pp. 105 e 113.
42) Espiroquetose e treponemose das gallinhas.
Rev. Zootechnia e Veterinaria, 1917, 7, n.º 1, pp. 3-10.
43) Sobre a presença do *Espirocheeta ictero-hemorrhagiae* nos ratos no Rio de Janeiro.
Brazil-Medico, 1917, 31, n.ò 39, pp. 329.
44) Notes on *"Granuloma venereum"*.
New Orleans med. & Trop. Journal, 1917, 70, p. 369.
45) Febre amarela e ictericia epidêmica. Orientação para uma therapeutica racional.
Brazil-Medico, 1917, 31, n.º 40, p. 409.
46) Some observations on the dysenterial endameba.
New Orleans med. & Trop. Journal, 1917, 70, pp. 374.
47) Considerações sobre a nomenclatura das endamebas parasitas do homem.
Annaes 1.º Congr. Med. Paulista, 1917, 2, p. 287.
48) Algumas observações relativas ás endamebas dysentericas.
Rev. Soc. Bras. Sci., 1917, n.º 1, p. 59.

49) Problema de prophylaxia rural.
Relatorio apresentado à Sociedade Nacional de Agricultura, em 9-10-1918
Imprensa Nacional 1918.
50) A proposito da grippe (Nota prévia).
Brazil-Médico, 1918, 32, N.º 45, p. 353.
51) Notas ixodidologicas.
Rev. Museu Paulista, 1918, 10, p. 1.
52) Theodoro Bayma.
Necrologia.
Brazil-Medico, 1918, 16 de novembro.
53) Classificação dos hemosperidios.
Mem. Inst. Butantan, 1918.
54) Considerações sobre as endamebas parasitas de intestino humano.
Conferencia Soc. Med. e Cir. S. Paulo, 1918, 3 de março.
55) Novo methodo para facilitar o diagnostico e a conservação os embryões de filaria no sangue e de parasitas nas fezes.
Brazil-Medico, 1918, 33, n.º 2, p. 9.
56) Breves considerações sobre a babesiose e a anaplasmose bovina.
Brazil-Medico, 1918, 33, n.º 2, p. 9.
57) Primeiros resultados do tratamento da febre amarella pelo neosalvarsan. (Nota prévia)
Brazil-Medico, 1919, 33, n.º 26, p. 201.
58) Sobre o microbio no "*Granuloma venereum*".
Brazil-Medico, 1919, 33, n.º 10, p. 74.
59) Alguns problemas relativos ás endemias ruraes no Brazil.
Discurso Soc. Med. e Cir. Rio, 1919, 15 de julho.
60) Transmissão do virus do myxoma dos coelhos pelas pulgas.
Brazil-Medico, 1920, 34, n.º 46, p. 753.
61) Sobre os *Ornithodores rostratus* Arag.
Arch. Escola Sup. Agricult. 1920.
62) A proposito da Polytomella agilis Arag.
Brazil-Medico, 1921, 35, n.º 9, p. 107.
63) Transmissão da leishmaniose no Brazil pelo *Phlebotomus intermedius*.
Brazil-Medico, 1922, 36, n.º 11, p. 129.
64) Estudos sobre os *Blastocystis*.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1922, 15, n.º 1, p. 240.
65) *Ornithodoros braziliensis*, n. sp.
Brazil-Medico, 1923, 37, n.º 2, p. 20.
66) Pesquizas sobre *Blastocystis*.
Brazil-Medico, 1923, 37, n.º 5, p. 58.
67) Leishmaniose tegumentar e sua transmissão pelos phlebotomos.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1927, 20, n.º 2, p. 177.
68) Myxoma dos coelhos.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1927, 20, n.º 2, p. 225.
69) Sur l'évolution du *Hœmoproteus columbae* et du *Trypanosoma hanai* dans la *Lynchia maura* Bigot.
C. R. Soc. Biol., 1927, 97, n.º 25, p. 827.
70) Sur un flagellé du latex de Maniot palmata, *Phytomonas françai*, n. sp.
C. R. Soc. Biol., 1927, 97, p. 1077.
71) Palestra sobre leishmaniose.
Sciencia Médica, Rio 1927, 5, n.º 3, p. 121.
72) O hematozoario do paludismo.
Arch. Bras. Med., Rio 1927, 17, n.º 4, p. 260.
73) Ueber *Phytomonas Françai* (einen neuen Flagellaten des Milchsaftes von *Maniot palmata*).
Abhandlungen aus dem Gebiete der Auslandskunde, Hamburgische Universitat, Band 26, 2 (Fetschrift Nocht) 1927.
74) Transmissão da leishmaniose pelos Phlebotomos.
A Folha Medica, Rio 1928, Anno 9, n.º 2, p. 13.

75) Relatório sobre as theses apresentadas sobre o thema V no 4.º Congresso Brasileiro de Hygiene.
Science Médica, Rio, 1928, 6, n.º 4, p. 160.

76) Observações sobre a febre amarella no Brasil.
Brazil-Médico, 1928, 42, n.º 27, p. 727.

77) Relatorio a respeito de algumas pesquizas sobre a febre amarella.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1928, suppl. n.º 2, p. 23.

78) Recherches sur la fièvre Jaune.
C. R. Soc. Biol., 1928, 99, n.º 30, p. 1341.

79) Recherches sur la fièvre Jaune.
Bull. Office Internat. Hyg. Publique, 1928, 20, n.º 10, p. 1584.

80) Possibilidade da infecção de *Aedes aegypti* machos com virus da febre amarella.
Brazil-Medico, 1929, 43, n.º 24, p. 671.

81) Sobre a transmissão de virus da febre amarella pelas fezes de mosquitos infectados.
(com Lima, A. da Costa)
Brasil-Medico, 1929, 43, n.º 24, p. 669.

82) Sobre a transmissão do virus da febre amarella pelas fezes de mosquitos infectados.
(com Lima, A. da Costa)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Suppl. n.º 8, p. 101.

83) Febre amarella experimental do Brasil.
Brasil-Medico, 1929, 43, n.º 30, p. 849.

84) Sobre a infecção do *M. rhesus* pela deposição de fezes de mosquitos infectados sobre a pele ou na conjunctiva ocular integras.
(com Lima, A. da Costa)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Suppl. n.º 9, p. 133.

85) Possibilidade da propagação directa da febre amarela de *Stegomyia* a "*Aedes aegypti*" sem intervenção do homem.
Brasil-Medico, 1929, 43, n.º 31, p. 885.

86) Sobre o tempo necessario para que stegomyias infectados excretem fezes virulentas.
(com Lima, A. da Costa)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Suppl. n.º 9, p. 139.

87) Infecção de Aedes aegypti macho e possibilidade da propagação da febre amarela de Stegomyia a Stegomyia sem passagem pelo homem.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Suppl. n.º 9, p. 190.

88) Sobre o poder infectante da haemolympha dos mosquitos contaminados com o virus da febre amarela.
(com Lima, A. da Costa)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Suppl. n.º 10, p. 251.

89) Possibilité de l'infection *d'Aedes aegypti* mâle par le virus de la fièvre Jaune.
C. R. Soc. Biol. 1929, 102, n.º 26, p. 54.

90) Sur la transmission du virus de la fièvre Jaune par les déjections de
(com Lima, A. da Costa)
C. R. Soc. Biol., 1929, 102, n.º 26, p. 53.

91) Modernas acquisições sobre a febre amarela experimental.
Arch. de Hygiene, D.N.S.P., 1929, 3, n.º 2, p. 5.

92) Infection des *Aedes aegypti* mâles avec les virus de la fiévre Jaune.
C. R. Soc. Biol., 1929, 102, n.º 29, p. 476.

93) Possibilité de la transmission directe de la fièvre jaune de stégomyie à stégomyie.
C. R. Soc. Biol., 1929, 102, n.º 29, p. 474.

94) Sur le temps nécessaire aux stégomyies infectées pour excréter des fèces virulentes.
(com Lima, A. da Costa)
C. R. Soc. Biol., 1929, 102, n.º 29, p. 478.

95) Transmission de la fièvre jaune par l'application de fèces de moustiques infectés sur la peau et la muqueuse oculaire intactes.
(com Lima, A. da Costa)
C. R. Soc. Biol., 1929, 102, n.º 29, p. 477.

96) Transmissão da febre amarella pelos mosquitos.
(Conferencia Bahia, 30-10-1929)
Brasil-Medico, 1929, 43, n.º 49, p. 1482.

97) Yellow fever virus. Transmission of Brazilian strains to *Macacus rhesus and Macacus cynomolgus*: preliminary report.
J.A.M.A., 1929, 92, p. 550.

98) Febre amarela experimental no Brasil.
4.ª Conferencia Sul-Amer. Hyg., Microb. e Pathol., Rio, 1929, 1 parte, p. 753.

99) Novas experiencias sobre a febre amarela.
(com Lima, A. da Costa)
Mem. Instituto Oswaldo Cruz, 1930, 23, n.º 2, p. 99.

100) Evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum* (Nota preliminar).
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1930, 24, n.º 2, p. 41.

101) Nouvelles experiences sur la fièvre jaune. Quantité de viruz chez le moustique.
(com Lima, A. da Costa)
C. R. Soc. Biol., 1930, 104, n.º 20, p. 619.

102) Evolução dos gametos do "*Plasmodium falciparum*".
Arch. Soc. Biol., Montevideo 1930, Suppl. n.º 5;
Actas do Congresso Int. de Biologia de Montevideo 7 a 12 de outubro 1930.

103) Sôro-virus vaccinação na febre amarela.
Brasil-Medico, 1931, 45, n.º 3, p. 49.

104) Sôro-virus vaccinação na febre amarela.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1931, 25, n.º 2, p. 213.

105) Notas sobre os *Ornithodoros rostratus, brasiliensis* e *turicata*.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1931, 25, n.º 3, p. 227.

106) Pesquizas sobre *Phytomonas françai*.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1931, 25, n.º 4, p. 299.

107) Vaccination par le sérum et le virus dans la fièvre jaune.
C. R. Soc. Biol., 1931, 108, n.º 37, p. 1078.

108) Pesquizas sobre *Phytomonas françai*.
Rev. Biol. e Hyg. S. Paulo, 1931, 2, n.º 4, p. 185.

109) Vaccinação contra a febre amarella. (Estado actual da questão).
Brasil-Medico, 1932, 46, n.º 26, p. 573.

110) Vaccinação contra a febre amarela.
Brasil-Medico, 1933, 47, n.º 5, p. 75.

111) Considerações sobre as hemogregarinas das aves.
Brasil-Medico, 1933, 47, n.º 9, p. 149.

112) Transmissão da febre amarela por carrapatos.
Brasil-Medico, 1933, 47, n.º 11, p. 185.

113) Sobre os microbios da variola, alastrim e varicella.
Brasil-Medico, 1933, 47, n.º 11, p. 187.

114) Emploi de virus vivant dans la vaccination contre la fièvre Jaune.
C. R. Soc. Biol., 1933, 112, n.º 14, p. 1471.

115) Considerações sobre os generos *Kalimmatobacterium* e *Klebsiella*.
Brasil-Medico, 1933, 47, n.º 27, p. 473.

116) Considérations sur les hémogrégarines des oiseaux.
C. R. Soc. Biol., 1933, 113, n.º 18, p. 214.

117) Microbiolcgie de la variole, de l'alastrim et de la varicelle.
C. R. Soc. Biol., 1933, 113, p. 1271.

118) Transmission de la fièvre jaune par les tiques.
C. R. Soc. Biol., 1933, 114, n.º 29, p. 137.

119) A propos du *Kalymmato-bactérium granulomatis* et des *Klebsiella*.
C. R. Soc. Biol., 1933, 114, n.º 34, p. 841.

120) Pesquisas microbiologicas no alastrim.
Brasil-Medico, 1933, 47, n.º 50, p. 887.
121) Recherces microbiologiques sur l'Alastrim.
C. R. Soc. Biol., 1934, 115, n.º 12, p. 1345.
122) Sensibilidade de algumas aves brasileiras ao *Plasmodium precox*.
Brasil-Medico, 1935, 49, n.º 7, p. 157.
123) Sensibilité de quelques oiseaux bresiliens au *Plasmodium precox*.
C. R. Soc. Biol., 1935, 118, n.º 9, p. 931.
124) Tentativas da inoculação de lepra humana em Didelphideos.
(com Penido, J. Carlos)
Brasil-Medico, 1935, 49, n.º 12, p. 267.
125) Observações sobre os Ixodideos da Republica Argentina.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1935, 30, n.º 3, p. 519.
126) Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1936, 31, n.º 4, p. 759.
127) Transmissão da febre amarela sylvestre pelo *Stegomyia* (*Aedes aegypti*) e pelos mosquitos da mata.
Brasil-Medico, 1937, 51, n.º 17, p. 497.
128) Epidemiologia prophylaxia da febre amarela.
Conferencia na Soc. Med. e Cir. S. Paulo, em 11-5-1937.
129) Relatorio sobre o problema da febre amarela sylvestre em S. Paulo.
Apres. ao Secretario de Educação e Saúde Pública de S. Paulo em 8-4-1937.
130) Observações a respeito de um foco limitado de febre amarela sylvestre no Estado de S. Paulo.
Brasil-Medico, 1938, 52, n.º 17, p. 401.
131) Nota sobre os Ixodideos da Republica Argentina.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1938, 33, n.º 2, p. 319.
132) Considerações sobre a amebiasis.
Arquivos de Higiene, Rio, 8, n.º 2, p. 401.
133) Observaciones sobre los Ixodideos de la Republica Argentina.
9.ª Reunión Soc. Argent. Patol. Regional, Mendoza, 1935, Tomo 3.º, p. 1476.
134) Mosquitos and yellow fever virus (apenas o titulo).
3erd Internat. Congr. Microbiol., 1939, N.Y., Sept. 2-9, p. 123.
135) Relatorio sobre a situação da Lagôa Rodrigo de Freitas sob o ponto de vista biologico.
(com Penido J. Carlos N.; Santos, Mario e Oliveira, Lejeune P. H. de).
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1939, 34, n.º 4, p. 457.
136) Observações a respeito de um foco limitado de Febre Amarela Silvestre no Estado de S. Paulo.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1939, 34, n.º 4, p. 495.
137) Mosquitos e virus da febre amarela.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1939, 34, n.º 4, p. 547.
138) Particularidades da febre amarela urbana e da silvestre no sul do Brasil.
Livro Homenagem Irmão Ozorio, 1939, p. 114.
139) Oswaldo Cruz e a Escola de Manguinhos.
Conferencia no Centro Academico Oswaldo Cruz, de S. Paulo, em 20-9-1940, p. 40 com 1 photografia.
140) Assuntos relativos a febre amarela.
A folha Medica, Rio, 1941, 22, n.º 16, p. 183.
141) Sobre a criação dos pitús (camarão ou lagosta de agua dôce).
(com Penido, J. C. & Moreira, Cicero)
Chacaras e Quintaes, 1941, Vol. 64, n.º 5, p. 586.
142) Sensibilidade do coelho do mato ao virus do mixoma; transmissão do mixoma pelo *"Aedes scapularis"* e pelo *"Stegomyia"*.
Brasil-Medico, 1942, 56, n.º 16, p. 207.
143) Ainda a criação dos pitús (camarão ou lagosta de agua dôce).
Chacaras e Quintaes, 1943, 65, n.º 5, p. 592.
144) Uma estação biológica para o estudo dos mosquitos e de outros animais silvestres relacionados com a febre amarela.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1943, 38, n.º 1, p. 21.

145) O virus do mixoma no coelho do mato.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1943, 38, n.º 1, p. 93.

146) Uma estação biológica para o estudo dos mosquitos e dos outros animais silvestres relacionados com a febre amarela.
Arq. Cir. clin. & exper. S. Paulo, 1942, 6, n.º 5/6, p. 852.

147) O virus da influenza.
Actas XI Conf. sanit. Panamer., 1942. set. 7-18, p. 51.

148) Relatorio dos trabalhos realizados durante o ano de 1942 pelo Instituto Oswaldo Cruz, apresentado ao Diretor Geral do Departamento Nacional de Saúde.
1943, Folheto de 33 pp. com 6 fotografias.

149) Necrológico do Dr. José de Castro Teixeira.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1944, 40, n.º 2, p. I-VI.

150) Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1943 pelo Instituto Oswaldo Cruz, apresentado ao Diretor Geral do Departamento Nacional de Saúde, 1944.

151) Necrologia do Dr. Astrogildo Machado.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1945, n.º 2, p. I-IV.

152) Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1944, pelo Instituto Oswaldo Cruz, apresentado ao Diretor Geral do Departamento Nacional de Saúde.
1945, Folheto de 66 pp. com 22 fotografias.

153) Homenagem á memória de Carlos Chagas e Evandro Chagas.
Bol. Higiene e Saúde Pública, 1946, Ano 4(6): 5-9.

154) Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1945 do Instituto Oswaldo Cruz.
Rio, 1946.

155) Discurso do Dr. Henrique de Beaurepaire Rohan Aragão.
Presidente interino do IBECC, inaugurando a Exposição de Arte Popular, da Semana Folclórica, a 22 de agôsto.
Boletim o I.B.E.C.C., 1948, 2(2): 136.

156) Nouvelles recherches sur la fièvre jaune.
Bruxelles Medical, 1928, n.º 4.

157) Relatório a respeito dos trabalhos executados na invernada dos Affonsos da Brigada Policial, apresentado ao Dr. Oswaldo Cruz (10-6-1907).

158) Sobre o cyclo evolutivo e a transmissão do *haemoproteus columbae*.
Memoria apresentada ao 6.º Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia.
ev. Med. São Paulo, 1908, 11 (20): 416.

159) Notícia histórica sôbre a fundação do Instituto Oswaldo Cruz.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1950, T. 48: 1-50, com 12 estampas fora do texto e uma planta.

160) Notas de ixodologia. I. Duas novas espécies do genero ixodes e um novo nome para *Haemaphisalis kochi* Aragão, 1908 (*Acari Ixodidae*).
(com Fonseca, Flavio da)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1951, Vol. 49: 567-574.

161) Notas de exodologia. II. Uma nova espécie do gênero *Amblyomma* e uma nova espécie do gênero *Ixodes* (*Acari*: *Ixodidae*)
(com Fonseca, Flávio da)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1952, 50: 713:726. Com 2 estampas.

162) Notas de ixodologia. III. Confirmação de *Ixodes aragãoi* Fonseca, 1935, de *Ixodes amarali* Fonseca, 1935, e lista das espécies do gênero *Ixodes* que ocorrem no Brasil (*Acari, Ixodidae*)
(com Fonseca, Flávio da)

163) Notas de Ixodologia. IV. Considerações sôbre a nomenclatura de algumas espécies do gênero *Amblyomma* do Brasil e países limítrofes. (*Acari*: *Ixodidae*)
(com Fonseca, Flávio da)

164) Uma Epizootia e vários insetos sugadores úteis ao homem.
A mixomatose dos coelhos na Austrália.
Manguinhos, Bol. do I.O.C., Ano 1, n.º 4, 1-4, 1952.

165) Trabalhos sôbre o *Granuloma venereum*.
Anaes do 1.º Congresso de Dermatologia e Syphilographia.
Rio de Janeiro, 13 a 20 de outubro, 1918: 301-305.

166) A mixomatose dos coelhos na França.
Manguinhos, Bol. I.O.C., Ano 2, n.º 9, 9-10, 1953.

167) Carlos Chagas, Diretor de Manguinhos.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 51, 1-10, 1953.

168) A propósito da validade de algumas espécies do gênero *Amblyomma* do continente Americano (*Acari*: *Ixodidae*).
(com Fonseca, Flávio da)
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 51, 485-492, 1953.

169) VI — Descrição da fêmea de *Amblyomma multipunctum* Neumann 1899 e redescrição do macho (*Acari*: *Ixodidae*).
(com Fonseca, Flávio da)
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 51, 493-498, 1953.

170) VII — *Otocentor nitens* Neumann, 1897, versus *Anocentor columbianus* Schulze, 1937 e comentarios sôbre a rápida disseminação dêsse Ixodideo no Brasil (*Acari*: *Ixodidae*).
(com Fonseca, Flávio da)
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 51, 499-502, 1953.

171) O *Pneumocystis carinii* como causa de pneumonia intersticial em crianças.
(com J. Jesuino Maciel)
Pediatria Prática, Vol. 26, n.º 1, 11-20, 1955.

Über den Entwicklungsgang und die Übertragung von Haemoproteus columbae*

Vorläufige Mitteilung

von

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão.

(Hierzu Tafel XI-XIII.)

Seit etwa einem Jahre beschäftigen wir uns schon mit dieser Aufgabe, über die wir bereits früher zwei kurze Arbeiten veröffentlicht haben (1). Vorliegende Arbeit soll nun die bis jetzt erlangten Ergebnisse ausführlicher darstellen.

Seit den Arbeiten von Labré und MacCallum über die Parasiten der Gattung *Haemoproteus* haben unsere Kenntnisse über jene Protozoen keine Fortschritte gemacht, denn alle Versuche, einen Einblick in ihren Entwicklungsgang und in die Art ihrer Übertragung zu gewinnen, sei es direkt oder durch einen Zwischenwirt, haben keine befriedigenden Resultate geliefert.

Erst die Arbeit von Schaudinn über den Generations- und Wirtswechsel (2) der Trypanosomen, die im Jahre 1904 erschien, lenkte wieder mit ihrer klaren und bis ins Einzelne gehenden Ausführlichkeit die Aufmerksamkeit auf jenes nun scheinbar gelöste Problem.

Bald darauf erschienen Arbeiten, die die Untersuchungen Schaudinn's bestätigten, von denen am meisten die der Brüder Sergent (3) Beachtung verdient, die dieselben Verhältnisse fanden. Billet (4) fand Wechselbeziehungen zwischen Trypanosomen und Hämogregarinen.

Zugleich mit diesen Veröffentlichungen erschienen aber auch sofort Arbeiten, die den Erfahrungen Schaudinn's widersprachen, hauptsächlich von seiten einiger amerikanischer Forscher, wie F. Novy und W. Mac Neal (5), die bemüht gewesen sind, zu beweisen, dass der Generationswechsel keine wirkliche Existenz besitzt, sondern vielmehr das Produkt einer Vermischung der Entwicklungscyclen beider Parasiten von *Athene noctuae* mit dem der Vogeltrypanosomen und des als Zwischenwirt angegebenen Moskitos sind.

---

* Reimpresso do *Archiv für Protistenkunde* Zwölfter Band, pp. 154-167 (Mit. Tafel XI-XIII) Verlag von Gustav Fischer, JENA, 1908.

Neuerdings sind diese Autoren zusammen mit TORREY der Frage näher getreten und suchen durch Laboratoriumsversuche, wie in den früheren Arbeiten, ihre Meinung weiter zu begründen. Unsere persönlichen Erfahrungen über Generationswechsel stimmen von Anfang an, was den *Haemoproteus* der Taube anbetrifft, mit dem, was für *Haemoproteus noctuae* angegeben worden ist, nicht überein. Nach Erscheinen der SCHAUDINN'schen Arbeit haben wir ohne den geringsten Erfolg seine Beobachtungen zu wiederholen versucht, indem wir uns mit *Haemoproteus* infizierter Tauben und des *Culex fatigans* bedienten. Weder in dem Vogel, noch in der Mücke haben wir die "Umwandlung" des Hämosporidiums in ein Trypanosoma beobachten können. Ohne jedoch irgendwelchen weiteren Schluss zu ziehen, liessen wir die Arbeit zunächst liegen, um sie vor einem Jahre mit unserem vorzüglichen Material infizierter Tauben wieder aufzunehmen und uns eingehender in sie zu vertiefen.

Vor allen Dingen suchten wir herauszufinden, wann und auf welche Weise die Infektion dieser Vögel stattfand. Die Untersuchungen ergaben ausnahmslos, dass die Infektion bereits sehr früh zustande kam, denn die junge Brut, die direkt aus dem Neste ins Laboratorium wanderte und dort vor dem Stich irgendeines Insektes peinlichst geschützt wurde, zeigte bereits nach einer Inkubationszeit von 20-30 Tagen Parasiten im Blute.

Im Beginne der Infektion werden die Erythrocyten des Vogels von zahlreichen kleinen Ringen angefallen, ähnlich den bei Hämosporidien beobachteten.

Nachdem wir so sicher festgestellt hatten, dass die Infektion bereits im Neste stattfindet, machten wir uns auf die Suche nach einem Zwischenwirte des Parasiten. Wir waren dabei von vornherein schon überzeugt, dass Mücken hier nicht in Frage kommen konnten, da diese Insekten niemals in den Taubenschlägen angetroffen worden waren. Das einzige saugende Insekt, dass sich dort beständig aufhält, zuweilen sogar in grosser Zahl, ist vielmehr *Lynchia brunea* oder *lividicolor* [OLIV.], eine bei den ausgewachsenen Tauben und hauptsächlich bei deren jungen Brut, in der Zeit, in der sie anfangen ein Federkleid anzulegen, gewöhnlich vorkommende Hippoboscide, also eine gewöhnlich nich frei herumfliegende, sondern am Wirt angeklammerte Diptere.

Von der Überzeugung nun ausgehend, dass nach Ausschluss irgendeines anderen Insektes, nur die *Lynchia* der Überträger des *Haemoproteus* sein könnte, begannen wir bei dieser nach dem Entwicklungsgange des Protozoen zu forschen. Es gelang uns aber nur, bis zur Phase des Ookineten zu gelangen, was aber andere Forscher lange vor uns schon erreicht hatten.

Alle weiteren Versuche, fortgeschrittenere Phasen des Parasiten in der Fliege zu finden, blieben vollständig fruchtlos.

Trotzdem brachten uns diese Missberfolge nicht nur nicht von der Idee ab, dass lediglich der *Lynchia* die Rolle des Überträgers des Parasiten zufiele, sondern sie führten uns erst recht dazu, nach-

zuforschen, ob dessen Entwicklug, im Insektenleibe unterbrochen, sich nicht etwa im Vogelorganismus, in den der *Haemoproteus* durch den Stich gelangte, fortsetzen würde. Dafür schien já die lange Inkubationsdauer zu sprechen, die grosse Zahl der Parasiten und deren Morphologie, die einen Ursprung aus Teilungsformen ähnlich den anderen Hämosporidien wahrscheinlich machten.

Die ersten Forschungen gaben uns nicht gleich die erwünschten Ergebnisse, später jedoch gelang es uns, bei fortgesetzten Beobachtungen in den Lungen der Tauben, und zwar nur in diesem Organ, die verschiedenen Entwicklungsphasen eines Protozoon zu finden, die wir von vornherein fast mit Sicherheit als zum *Haemoproteus* gehörend erkannten.

Zur selben Zeit, in welcher wir diese Beobachtungen machten, brachten die Brüder Sergent (7) den praktischen Beweis für die Übertragung von *Haemoproteus* durch die Lynchien und bestätigten sowohl die Hypothese, die unter uns schon lange durch den Professor A. Lutz bestand, als auch unsere eigenen Vermutungen über diese Frage.

Wir verschafften uns Tauben, die absolut nicht mit *Haemoproteus* infiziert waren, und konnten gleich einen Beitrag zu den Ergebnissen dieser beiden französischen Gelehrten liefern, indem wir uns einer anderen Species der *Lynchia* bedienten wie sie. Zugleich waren wir in der Lage, im Organismus der künstlich infizierten Vögel die bereits aus dem Studium der natürlichen Infektion uns bekannten verschiedenen Entwicklungsphasen des Parasiten zu erhalten.

Material und Technik der Forschungen.

Zu unseren Untersuchungen verfügen wir im Institut nicht nur über ein reichhaltiges Material von etwa 600 infizierten Tauben, sondern es ist uns in Rio und dessen nächster Umgebung, wo die Infektion bei diesen Tieren konstant ist, leicht, solche käuflich zu erwerben.

Völlig gesunde Tauben zu erhalten war anfangs sehr schwierig, da alle aus Rio und den nächstliegenden brasilianischen Staaten kommenden sich, wie oben bereits erwähnt, als infiziert erwiesen. Wir liessen sie daher aus Argentinien kommen, wo eine solche Infektion gar nicht zu existieren scheint, da wir sie in den mehr als 150 Tauben, die von dort kamen, nicht beobachtet haben.

Diese Vögel werden im Institut, vor jeder Infektion geschützt, in einem durch Metallgitterwerk abgeschlossenen Raum gehalten. Bis jetzt haben wir bei diesen keinen Fall von Laboratoriumsinfektion beobachten können, was die Wirksamkeit jenes Schutzmittels beweist. In gleicher Weise werden die Versuchstauben in Käfigen isoliert, die ebenfalls durch Drahtnetze geschützt sind. Die Lynchien fingen wir auf den Tauben und hauptsächlich auf deren junger Brut ab. Gerade letztere werden am meisten von der Fliege aufgesucht und man kann auf einer einzigen jungen Taube bis zu 20 Insekten finden. Die Fliegen

pflegen wir auch aus Puppen zu ziehen, die in Taubenschlägen und Käfigen gefunden werden.

Die Lynchen stechen die Vögel ausserordentlich häufig. Wir glauben uns das durch die geringe Kapazität ihres Intestinaltractus erklären zu können, die diesem nicht erlaubt Speisereste aufzuspeichern, denn sie sterben bereits, wenn sie über 48 Stunden von den Tauben fern gehalten werden.

Der Stich der Lynchien belästigt die Tauben sehr. Sie suchen sich von ihnen zu befreien, indem sie sie aufpicken. Um letzteres zu verhindern, pflegen wir ihnen den Kopf mit einer Tuchkappe zu bedecken, die nur während der Fütterung entfernt wird.

Ehe wir unsere Lynchien zu irgendwelcher Untersuchung verwenden, setzen wir sie für die Dauer von 2 Tagen auf eine stark infizierte Taube. Ausserdem haben wir die eine oder die andere von einer Anzahl der zur Untersuchung gebrauchten auf ihren Infektionsgrad hin untersucht und bedienten uns der übrigen nur dann, wenn der Darmtractus des untersuchten Exemplars eine grosse Zahl von Ookineten aufwies.

Um mit den Lynchien zu infizieren, lassen wir sie die Tauben stechen oder spritzen letzteren starke Fliegen-Emulsionen ein. Die Emulsionen stellen wir so dar, dass wir das Insekt in einem Mörser in physiologischer Kochsalzlösung zerreiben. Die Injektion ist völlig gefahrlos, selbst auf intravenösem Wege.

Was die Untersuchung des Parasiten im Vogelorganismus anbetrifft, so kann man sie im frischen Präparat, im gefärbten Ausstrich oder in Schnitten vornehmen. Zur Untersuchung frischer Präparate quetschen wir ein Stück des Organs zwischen zwei Objektträgern und verdünnen den so gewonnenen Saft in etwas physiologischer Kochsalzlösung. Wir untersuchen nun den Saft in Ausstrichpräparaten oder nach den Regeln der allgemeinen Technik: Fixierungen in Alkohol mit darauffolgender Giemsa-Färbung, jedoch mit zwei oder dreimal stärkerem Reagens als für die Blutfärbungen.

Die Organe werden am besten in Sublimateisessig oder in 10 proz. Formalin fixiert. Schöne Färbungen erhält man mit Böhmer's Hämatoxylin, allein oder mit Eosin, Methylenblau-Eosin, Eisenhämatoxylin usw.

Entwicklungsgang des Hämoproteus in der Lynchia.

Sobald durch den Stich an dem infizierten Vogel die Gameten in den Magen des Insektes gelangen, nehmen sie eine kugeline Form an, verlassen die Blutkörperchen, in denen sie sich befanden, und die Befruchtung erfolgt in der bekannten Weise.

Zwei bis drei Stunden darauf beginnt die Bildung des Ookineten, die die gleiche Zeit bis zu seiner Vollendung in Anspruch nimmt.

Der vollständig ausgebildete Ookinet ist länglich, S-formig mit mehreren Vacuolen und einem fast über die ganze Oberfläche ver-

streuten Pigment versehen. Er zeigt langsame gregarinenartige Bewegungen, durch die er seinen Platz ändern kann. Auf diese Weise kommt es, dass sie sich am Anfang des Darmes der *Lynchia* ansammeln können, in dem sich fast immer frisch gesogenes Blut befindet. Im hinteren Teil des Intestinaltractus, in welchem die Blutkörperchen bereits mehr oder minder verändert sind, ist diese Form des Parasiten äusserst selten.

Einige Zeit nach seiner vollständigen Entwicklung beginnt der Ookinet an seinem vorderen Ende eine rötliche Färbung aufzunehmen, während das Pigment sich allmählich hinter dem Kern des Parasiten ansammelt, und zwar an der Grenze zwischen den beiden hinteren Dritteln, wo eine Einschnürung erscheint, die immer mehr zunimmt, bis es schliesslich zu einer Trennung des Protozoon von einem mit Pigment beladenen Protoplasmaklumpen kommt.

Nach einiger Zeit bildet sich in derselben Weise eine neue Einschnürung des Parasitenkörpers, die zu einer Teilung und Bildung eines zweiten mit dem Rest des Pigments beladenen Protoplasmaklümpchens führt. Durch diese Teilungsvorgänge erscheint der Parasit jetzt halb so gross wie zuerst. Seine Struktur wird homogen und der Kern weniger sichtbar. Alle unsere Bemühungen, bei *Lynchia* den Entwicklungsgang des Parasiten über diese Phase hinaus zu verfolgen, sind völlig erfolglos geblieben. Wir glauben nicht, dass der Parasit unsichtbar, noch weniger, das er filtrierbar wird. Ebensowenig ist es uns gelungen, im Insektenleibe eine Metamorphose in Trypanosomen zu beobachten. Unsere Ansicht geht dahin, dass, sobald im Insekt die Bildung des Ookineten stattgefunden hat, die Entwicklung des Parasiten zum Stillstand kommt, um erst im Taubenorganismus vollendet zu werden. Bei dem Stich der Fliege wird eine kleine Menge früher gesaugten Blutes mitsamt einigen Ookineten, die, wie früher gesagt, am vorderen Ende des Mitteldarmes sich ansammeln, ausgestossen und der Taube einverleibt.

Da die *Lynchia* häufig stechen muss, so ist damit eine günstige Bedingung für das eben Gesagte gegeben, was auch das Auftreten einiger weniger infizierter Blutkörperchen noch während der Inkubationszeit bei den dem Versuch ausgesetzten Tieren beweist, die von zahlreichen infizierten Lynchien gestochen worden waren. Es ist klar, dass solche Formen nur dann im Vogelorganismus auftreten konnten, wenn die Lynchien soeben einige infizierte Blutkörperchen hineingebracht hatten. Es ist ausgeschlossen, dass in unserem Falle die Vögel, mit denen wir gearbeitet haben, etwa vorher schon infiziert gewesen wären, nicht nur, weil sie aus Argentinen kommen und in diesen bisher niemals Parasiten im Blute gefunden wurden, sondern auch, weil, wenn dieser Fall wiklich einmal einträte, die experimentelle Infektion negativ hätte ausfallen müssen. Denn es ist uns bisher nur bei vollständig gesunden Tieren gelungen, eine Infektion zustande zu bringen. Somit scheinen die bereits infizierten Tauben gegen die Krankheit mehr oder minder immun zu sein. Was die Übertragung von *Haemoproteus* durch

die *Lynchia* anbetrifft, die durch die Brüder SERGENT klar erwiesen ist, so erhält sie von Tag zu Tag neue Bestätigungen.

Wir haben eine *Lynchia*-Art benutzt, die sich von derjenigen der französischen Gelehrten unterscheidet und haben mit ihnen in allen unseren 23 Versuchen stets positive Resultate erzielt. Die von uns beobachtete Inkubationszeit hat die Dauer von 28 Tagen nie überschritten.

Eine Vererbung der Infektion gibt es nicht, da wir Lynchien, die im Laboratorium aus ihren Puppen gezogen waren, auf die Tauben stezten, manchmal 80 auf eine einzige, ohne dass die Vögel selbst nach langer Zeit infiziert worden wären. Dieser Versuch ist sieben Mal angestellt worden.

Die experimentelle Infektion hat sich dank der grossen Zahl von Lynchien, die wir auf die Vögel setzten, stärker erwiesen, wie die natürliche. Sie ist proportional der Zahl und dem Infektionsgrade der stechenden Insekten. Wenn eine gesunde Taube von 15 infizierten Lynchien gestochen wird, so ist die Infektion schon stark genug. Sie wird kolossal, wenn die Zahl der Insekten auf 50 gesteigert wird.

Wie wir in drei Versuchen festgestellt haben, in denen wir 15—25 Insekten benutzten, sind die infizierten Lynchien, wenn sie drei Tage lang an einer gesunden Taube gestochen haben, nicht mehr imstande, den Parasiten auf andere völlig gesunde Tiere zu übertragen.

Die intravenöse Injektion der Lynchienemulsion hat in 11 Versuchen immer eine Infektion hervorgerufen. Die Emulsionen sind in verschiedenen Dosierungen (5—15 Insekten) angefertigt worden. In zwei Fällen genügte die einfache intravenöse Injektion einer Emulsion aus dem Abdomen von 10 Lynchien. Die höchste Inkubationszeit nach der intravenösen Injektion betrug 25 Tage. Diese Infektion kann ebenso stark sein, wie die durch Insektenstich verursachte. Die Einspritzung durch Berkefeldkerzen filtrierter Emulsionen scheint eine Infektion nicht bewirken zu können. Bei einem in diesem Sinne ausgeführten Versuche zeigte es sich, dass fünf mit dem Filtrat intravenös injizierte Tauben nicht infiziert wurden, während zwei mit einem nicht filtrierten Teil der Emulsion ebenso behandelte Kontrolltiere ausserordentlich viel Parasiten in ihrem Blute aufwiesen. Zu beachten ist dabei, dass sämtliche zu diesem Versuche benutzten Tauben sich während der ganzen Zeit in einem und demselben Käfige befanden, so dass irgendeine andere Ursache der Infektion wenig wahrscheinlich ist.

Eine Infektion auf subkutanem Wege mit Emulsionen infizierter Lynchien ist uns bis jetzt nicht gelungen.

Entwicklung von Haemoproteus *im Taubenorganismus.*

Wie bereits früher erwähnt ist das infizierende Element, dass die *Lynchia* beim Stich in den Vogelorganismus mit hineinbefördert, unserer Meinung nach ein Ookinet, der nun seine im Insekt begonnene Entwicklung vollendet.

Bisher ist es uns zwar noch nicht gelungen, den Parasiten unmittelbar nach dem Insektenstich zu finden. In den seltensten Fällen ist uns in der Stichwunde oder in der Lunge der Vögel ein oder der andere Leucocyt begegnet, in dessen Leibe massenhaft Chromatin mit einem Protoplasmasaum sichtbar war, was wahrscheinlich auf eine Einverleibung des eingeimpften Parasiten zurückzuführen ist. Diese Beobachtungen gehören jedoch zu den Ausnahmefällen, da man im allgemeinen erst 13—14 Tage nach dem Insektenstich den bis dahin gänzlich unsichtbaren Parasiten zu sehen bekommt. Er ist dann bequem aufzufinden und seine Entwicklung in der Lunge leicht zu verfolgen. Hier findet man das Protozoon im Protoplasma eines mononucleären Leucocyten, der sich an die Wand eines Blutgefässes heftet, so dass wir zuerst zu dem Gedanken verleitet wurden, dass die Entwicklung des Parasiten in einer Endothelzelle vor sich ginge. Bei der Beobachtung der Anfangsphasen der Entwicklung des Parasiten in der Taubenlunge kamen wir jedoch von diesem Gedanken ab, da hier die mit Parasiten gefüllten Zellen das typische Aussehen eines Leucocyten haben, welches sie dann mit der fortschreitenden Entwicklung des Parasiten verlieren.

Trotz wiederholter Untersuchungen haben wir bis jetzt vor dem Ablauf von 13—14 Tagen in der Vogellunge leider keine infizierten weissen Blutkörperchen antreffen können. Das hängt vielleicht damit zusammen, dass sie erst dann in dem Organ bleiben, wenn der Parasit ein gewisses Entwicklungsstadium erreicht hat, während sie vorher frei im Vogelorganismus zirkulieren, wo sie begreiflicherweise nicht leicht aufzufinden sind. Das steht jedenfalls fest, dass das durch das Insekt in den Taubenorganismus hineigebrachte Protozoon von einem Leucocyten aufgenommen wird, der es nicht zerstört und der nach einiger Zeit, während welcher sich der Parasit in seinem Leibe entwickelt hatte, sich in der Lunge des Vogels niederlässt. Den Entwicklungscyclus von *Haemoproteus* im Leucocyten haben wir bis jetzt nur in der Lunge beobachten können, was durch die Vorliebe der infizierten Leucocyten für dieses Organ seine Erklärung findet. Diese Vorliebe hat nichts Aussergewöhnliches an sich und findet sich regelmässig bei Leucocyten, die irgendeinen Körper aufgefressen haben, den sie nicht zu zerstören vermögen.

Die ersten Formen des Parasiten, denen man in der Vogellunge begegnet, stellen einen kleinen Protoplasmaleib von 3—4 μ Durchmesser dar mit einem Chromatinklumpen, der zuweilen schon in Teilung begriffen ist. Der Leucocyt, in dem sich diese Form des Parasiten zeigt, erscheint leicht vergrössert (Tafel XII Fig. 1).

Bei der weiteren Entwicklung teilt sich nun diese Form in eine Zahl von im Inneren eines Leucocyten angehäuften Körperchen: 12, 15 und mehr. Das Protoplasma des Leucocyten und sein Kern erscheinen noch mehr vergrössert. Jedes dieser Körperchen besteht aus einem Protoplasmaleibe mit einem Chromatinkörnchen in der Mitte und einer noch wenig deutlichen Membran. Diese Entwicklungsphase findet sich am 15. bis 17. Tage nach dem Insektenstich (Taf. XII Fig. 2 u. 3).

Auf einem weiteren Stadium zeigt jedes dieser im Leucocytenprotoplasma enthaltenen Körperchen ein rapides Wachstum. Sein Protoplasma gewinnt an Volumen und nimmt eine längliche Gestalt von 8—12 μ an. In seinem Innern erscheint das bereits geteilte Chromatin in Form von 6—8 kleinen Klümpchen. Da jedes dieser Protoplasmaklümpchen von einer zarten Membran umhüllt wird, so sehen sie aus, als ob sie im infizierten Leucocyten mehrere neue Cysten bilden würden.

In dieser Entwicklungsphase, die am 18. oder 19. Tage stattfindet, zeigen die durch die eben erwähnten Vorgänge stark hypertrophischen Leucocyten die Form eines Sackes von einer Grösse bis 60 μ. Ihr Kern erscheint in die Länge gezogen und von den Parasiten an die Wand gedrängt. Die Cysten im Innern des Leucocyten nehmen jetzt weiter an Grösse zu bis die Wände dieses Sackes reissen und sie in Freiheit setzen. Dank der Adhärenz ihrer Hüllen sowohl untereinander, als auch zur Gefässwand, der sich der Leucocyt angelegt hatte, bleiben sie zu einem Haufen vereinigt. In solchen Haufen sieht man dann häufig stark veränderte Trümmer des Leucocytenkernes und Fragmente der Zellmembran.

Das Reissen des Sackes, in welchem sich die Cysten befanden, schadet ihrer Entwicklung durchaus nicht. Diese geht im Gegenteil ihren Gang ruhig weiter. Die Zahl der Cysten in diesen Haufen, die nich selten einen Umfang von 70—80 μ Durchmesser erreichen, ist oft sehr gross.

Im weiteren Fortschreiten dieser Phase werden an den Cysten gewisse Verschiedenheit wahrgenommen. Es tritt nämlich in einem Teile derselben eine Kondensation des Protoplasmas ein, und die Chromatinkörnchen erscheinen sehr klein, während in dem anderen Teil sich genau der entgegengesetzte Vorgang abspielt.

Bei den nach Giemsa gefärbten Präparaten werden diese Unterschiede deutlicher, da bei den Cysten der ersteren Art das Protoplasma intensiver gefärbt erscheint wie bei der zweiten. Diese Veränderungen bei Cysten gleichen Alters und Ursprungs bringen uns auf den Gedanken, dass es sich hier um den Ausdruck einer späteren Geschlechtsdifferenzierung der Parasiten handelt, deren Ursprung sie bilden und dass der erste Typus vielleicht die weiblichen, der andere die männlichen Formen liefert.

Bis zum 20.—24. Tage nach der Infektion hat die Cyste eine ausserordentliche Volumzunahme erfahren. Sie erreicht äusserst schnell einen Durchmesser von 50 μ. Das Protoplasma verdichtet sich allmählich, zeigt eine feinere Struktur und einige Vacuolen. Das Chromatin, zuerst durch die häufigen Teilungen etwas spärlich, stellt jetzt äusserst zahlreiche kleine Fragmente dar. Die Membran ist sehr zart.

Mit dieser Phase erreicht das Wachstum der Cyste ein Ende. Vom 24. bis zum 25. Tage nach der Infektion teilt sich ihr Protoplasma in zahlreiche polygonale Körperchen, ein Umstand, der ihr das Aussehen eines jungen Malariasporoblasten verleiht (Taf. XII Fig. 19).

In diesen polygonalen Körperchen sind die Chromatinkörnchen noch zahlreicher, wie bei irgendeiner der vorhergehenden Phasen und zeigen die Neigung, sich fast ausschliesslich an der Peripherie aufzuhalten. Schliesslich 25 oder 26 Tage nach dem Inserktenstich zeigt sich in diesen polygonalen Massen der letzte Teilungsprozess. Jedes einzelne Chromatinkörnchen isoliert sich mit einem kleinen Teilchen Protoplasma. Im Innern der Cyst erscheinen Hunderte von Merozoiten. Damit ist die letzte Entwicklungsphase beendet.

Die Merozoiten zeigen im gefärbten Präparat eine dreieckige Form. Sie bestehen aus einem in einem Protoplasmaklümpchen exzentrisch gelegenen Chromatinkörnchen und sind etwa 1 μ gross. Mit GIEMSA färbt sich das Protoplasma hellblau und das Chromatin intensiv rubinrot. Die Membran der reifen Cyste ist sehr zart, leicht gestreift und färbt sich hellrosa.

Die farbigen Zeichnungen auf Taf. XII Fig. 9—20 zeigen die Cysten des Parasiten in ihren verschiedenen Entwicklungsstadien.

Sobald die Merozoiten im Innern der Cyste zur vollen Ausbildung gelangt sind, platzt letztere. Die so in Freiheit gesetzten Merozoiten gelangen in den Blutkreislauf des Vogels und greifen die roten Blutkörperchen sofort an, was gewöhnlich am 26. Tage nach dem Insektenstiche geschieht (Taf. XIII Fig. 21—23).

Normalerweise bedarf der Parasit bis zu seiner vollen Entwicklung im Innern seines Leucocyten eines Zeitraumes von mindestens 26 Tagen, es kommt jedoch vor, dass nicht alle sich in derselben Zeit entwickeln, daher man im Schnittpräparat ein und derselben Lunge die verschiedensten Entwicklungsstadien des Parasiten antrifft. Die Invasion der roten Blutkörperchen scheint gleich in der Lunge stattzufinden, denn selbst bei sehr infizierten Vögeln sind im Blutpräparat freie Merozoiten selten zu finden.

Bei der Untersuchung frischer Präparate im hängenden Tropfen erscheinen sie länglich oder spindelförmig, mit lebhaftem Zittern und geringem Ortswechsel.

Während die verschiedenen Entwicklungsphasen des *Haemoproteus* im Leucocyten vor sich gehen, nimmt das Lumen des Gefässes, in dem der Leucocyt sich befindet, allmählich in demselben Masse ab, in dem die Zunahme der weissen Blutzelle vor sich geht. Handelt es sich um eine Capillare, so wird sie von vornherein gleich von dem Leucocyten verschlossen, dessen Cysten sich dem Gefässe entsprechend in die Länge ziehen und einen Abguss desselben darstellen. Bei einem grösseren Gefässe dagegen muss es schon zu einer grösseren Ansammlung infizierter Leucocyten kommen oder sich um bereits sehr fortgeschrittene Phasen der Infektion handeln, ehe es dazu kommt. Auf diese Weise entstehen in der ganzen Vogellunge kleine Thrombosen, die in vielen Fällen schwerer Infektion eine Erschwerung, ja selbst eine Unterbrechung des Blutstromes in gewissen Zonen des Organes veranlassen können, so dass hier sogar zuweilen bereits eine Schädigung des Gewebes zu sehen ist.

Über die Verteilung der Cysten in der Vogellunge gibt der Schnitt durch eine Taubenlunge auf Taf. XII Fig. 15 ein anschauliches Bild. Es handelt sich hier um eine künstlich infizierte Taube.

Mit dem Platzen der Merozoitencysten und deren Eintritt in den Blutstrom wird die Blutzirkulation in dem grössten Teile des Organes wiederhergestellt. Dabei kommt es häufig vor, dass einige Cysten, hauptsächlich solche, deren Entwicklungsphase noch nicht sehr fortgeschritten ist, sich von den erwähnten aufen losreissen und von dem Blutstrome mitgerissen werden, wo sie schon im Beginne der Blutinfektion erscheinen und auch einige Zeit sichtbar bleiben.

Das Vorkommen von Cysten im peripheren Kreislauf ist sogar die Haupterscheinung des Beginnes der Infektion, denn zuweilen ist es viel leichter in den Präparaten freie Cysten zu finden, als in den Blutkörperchen Parasiten.

Die Cysten aus dem peripheren Kreislauf unterscheiden sich in ihrem Aussehen etwas von denen aus der Lunge. Sie sind von polygonaler Form, das Chromatin erscheint als längliche Stäbchen, die die Neigung haben, sich parallel zueinander zu stellen. Über das Schicksal dieser Cysten haben wir uns noch keine endgültige Meinung bilden können, soviel steht aber fest, dass einige Tage nach Beginn der Infektion ihre Zahl schnell abnimmt, bis sie nach einiger Zeit gänzlich aus dem Kreislauf verschwinden.

Die Zahl der Parasiten in den Blutkörperchen ist anfangs nur spärlich, nimmt aber dann rasch zu, um für lange Zeit stationär zu bleiben.

Im Anfangsstadium der Infektion sieht man nicht selten 8—12 Parasiten in einem Blutkörperchen. Man kann sich dieses nur so erklären, dass die letzteren in dem Momente in die Nähe einer reifen Cyste kamen, in dem diese ihre Merozoiten in Freiheit setzte (Taf. XIII Fig. 24).

Ein dermassen mit Parasiten erfüllter Erythrocyt geht jedoch bald zugrunde, da in ihm mehr als zwei Parasiten nich zur vollen Entwicklung gelangen können.

Die Entwicklung des Protozoon im roten Blutkörperchen zielt immer auf die Bildung einer geschlechtlichen Form hin, wenigstens kennt man bei *Haemoproteus* keine Schizogonie im roten Blutkörperchen.

Auffallend ist es, dass, wenn man die Cysten, wenigstens in ihren Anfangsphasen, je nach dem Verhalten ihres Protoplasmas zum Chromatin in männliche und weibliche unterscheiden sollte (s.o.), es doch schwierig ist, im Beginne der Infektion bei den jugendlichen intraglobulären Formen die geschlechtliche Differenzierung zu erkennen. Sobald diese aber eine gewisse Entwicklungsstufe erreicht haben, wird die Unterscheidung leicht.

Die in dieser Arbeit beschriebenen verschiedenen Entwicklungsphasen von *Haemoproteus columbae* haben wir sowohl an natürlich als auch an künstlich infizierten Tauben beobachtet. Bei letzteren sogar unter günstigeren Bedingungen, da diese Art der Infektion absichtlich viel heftiger und intensiver zustande gebracht werden kann.

Wenn auch vorläufig noch nicht alle Entwicklungsperioden des Protozoon bis ins einzelne bekannt sind, so können wir doch schon mit

Bestimmtheit sagen, dass ein Teil des Entwicklungscyclus sich in der *Lynchia* abspielt, wo er bis zur Bildung des Ookineten reicht und anscheinend hier im Insekt zum Stillstand kommt. Der andere Teil geht im Vogelorganismus vor sich und kann zweckmässig in zwei Phasen eingeteilt werden. In die leucocytäre, die grösstenteils in der Lunge, und in die erythrocytäre, die in den roten Blutkörperchen der Tauben sich abspielt. Beiliegendes Schema (Taf. XI) zeigt die von uns beobachteten verschiedenen Entwicklungsphasen in der *Lynchia* und dem Vogelorganismus.

Es erübrigt sich, auf den grossen Unterschied hinzuweisen, zwischen dem von uns gefundenen Entwicklungcyclus von *Haemoproteus columbae* und dem von SCHAUDINN beschriebenen von *Haemoproteus noctuae*. Dieser Unterschied lässt uns eine scharfe Trennung zwischen den beiden Blutparasiten gerechtfertig erscheinen. Dass Trypanosomen und *Haemoproteus* in demselben Vogel gefunden werden, ist eine gewöhnliche Erscheinung, ohne dass jedoch zwischen jenen und dem *Haemoproteus* irgendwelche Beziehungen bestehen.

Wir selbst haben im Laufe unserer letzten Versuche viermal Gelegenheit gehabt, einem 40 μ langen *Trypanosoma* zu begegnen, das identisch zu sein scheint mit dem von HANNA bei den Tauben Indiens beobachteten, und das NOVY und MACNEAL ihrem Typus zuschreiben als *"Trypanosoma avium"*.

Die Anwesenheit solcher Trypanosomen hat auf den Grad der Infektion gar keinen Einfluss, abgesehen davon, dass sie die für solche Protozoen typische Form aufweisen, und nicht die von SCHAUDINN angegebene herpetomonasartige. Zudem steht seine Grösse in keinem Verhältnis zu der des Blutparasiten. In einer späteren Arbeit werden wir uns mit diesem *Trypanosoma* näher beschäftigen.

Wir hoffen in kürzester Zeit auf Grund der bisher gemachten Versuche die erhaltenen Resultate noch vervollständigen zu können.

LITERATURVERZEICHNIS.

1) HENRIQUE ARAGÃO: Sobre o cyclo evolutivo do halterideo do pombo. Nota preliminar. Brazil Medico 15.IV.07. Segunda Nota. Brazil Medico 15.VIII.07. (Über den Entwicklungscyclus des Halteridium der Taube. I. Bericht: Brazil Medico 15.IV.07. II. Bericht: Brazil Medico 15.VIII.07.

2) F. SCHAUDINN: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. XX H. 3 1904.

3) SERGENT, EDM. et ÉT.: Hémamibes des Oiseaux et Moustiques. "Générations alternantes" de Schaudinn. C. R. Soc. Biol. Paris T. 58 1905.

4) BILLÉT: Sur le Trypanosoma inopinatum de la grenouille verte d'Algérie et sa relation possible avec les Drepanidium. C. R. Soc. Biol. Paris T. 57 No. 27 1904.

5) F. NOVY and W. MACNEAL: On the trypanosomes of Birds. Journ. of Infec. Diseases Vol. 2 No. 2 1905.

6) F. NOVY and MACNEAL and H. TORREY: The Trypanosomes of Mosquitoes and other Insects. Journ. of Infect. Diseases Vol. 4 No. 2 1907.

7) SERGENT, EDM. et ÉT.: Sur le second hôte de l'Hemoproteus Halteridium du pigeon. C. R. Soc. Biol. T. LXI No. 34 1906.

Tafel XI.

Schema des Entwicklungscyclus von *Haemoproteus columbae*.

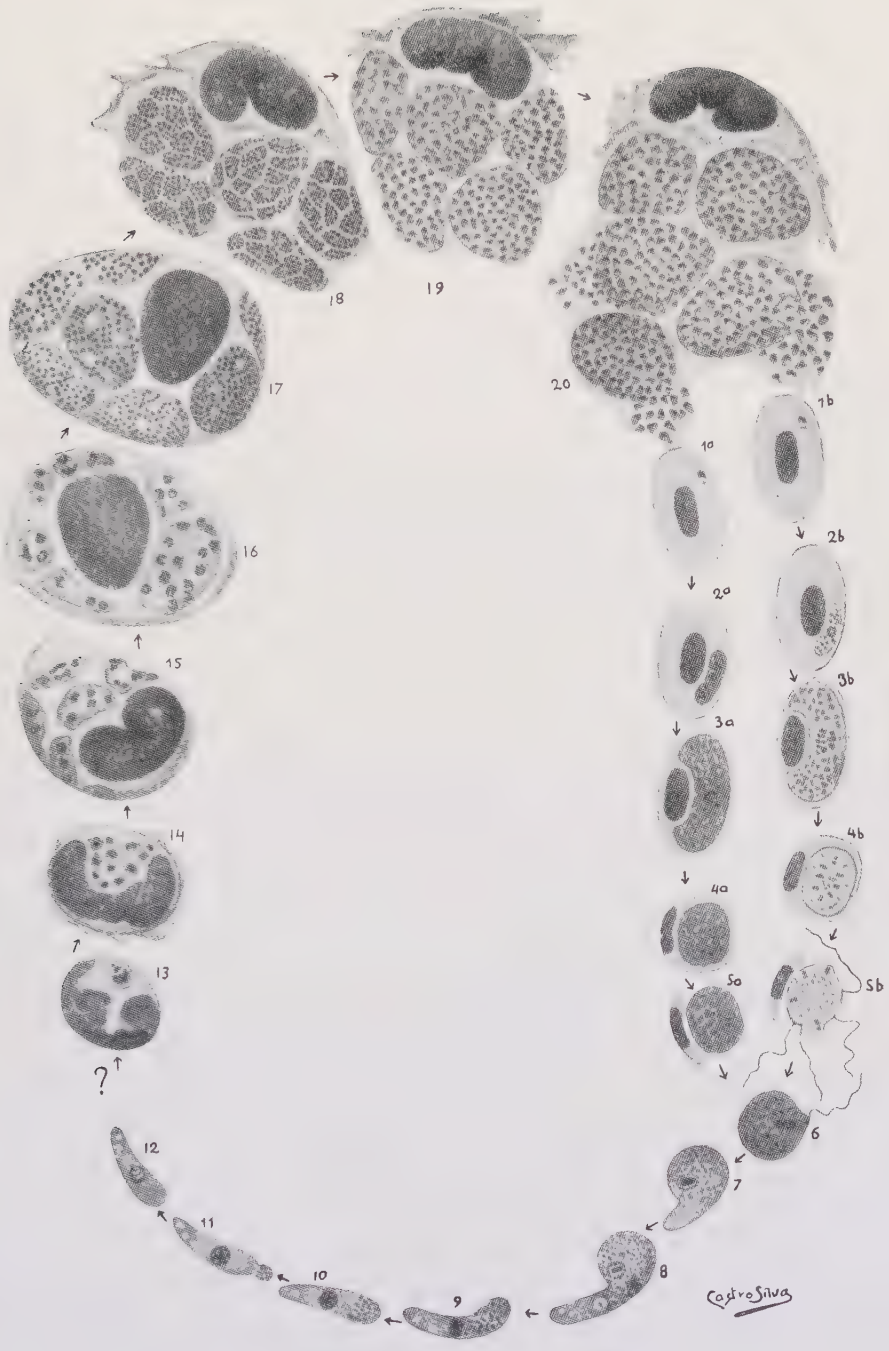
Fig. 1, 1a—4, 4a. Entwicklung von *Haemoproteus* in den Blutkörperchen der Taube.

Fig. 5, 5a, 6, 6a, 7. Entwicklung von *Haemoproteus* im Verdauungskanal von *Lynchia*.

Fig. 12—19. Entwicklung von *Haemoproteus* im Innern des Leucocyten in der Taubenlunge.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 53 (2-4), 1955

TAFEL XI



Tafel XII u. XIII.

Fig. 1. Leucocyt aus der Taubenlunge. In seinem Innern ein Parasit während der ersten Entwicklungsphase in diesem Organ. a) Kern des Leucocyten. b) Parasit. c) Protoplasma des Leucocyten.

Fig. 2—6. Verschiedene Entwicklungsphasen der Cysten im Innern des Leucocyten.

Fig. 7—8. Cystenhaufen von *Haemoproteus* nach dem Platzen des Leucocytenzellsackes. a) Stark veränderter Leucocytenkern. b) u. c) Cysten, bei welchen die Färbungsunterschiede und Chromatinmenge Eigenschaften verschiedenen Geschlechtes anzuzeigen scheinen. d) Reste der Membran, die den Sack bildete, in dem sich die Cysten befanden.

Fig. 9—20. Die aufeinanderfolgenden Phasen der Entwicklung einer Cyste. a) Cystenmembran. b) Protoplasma. c) Kern. d) Vacuole.

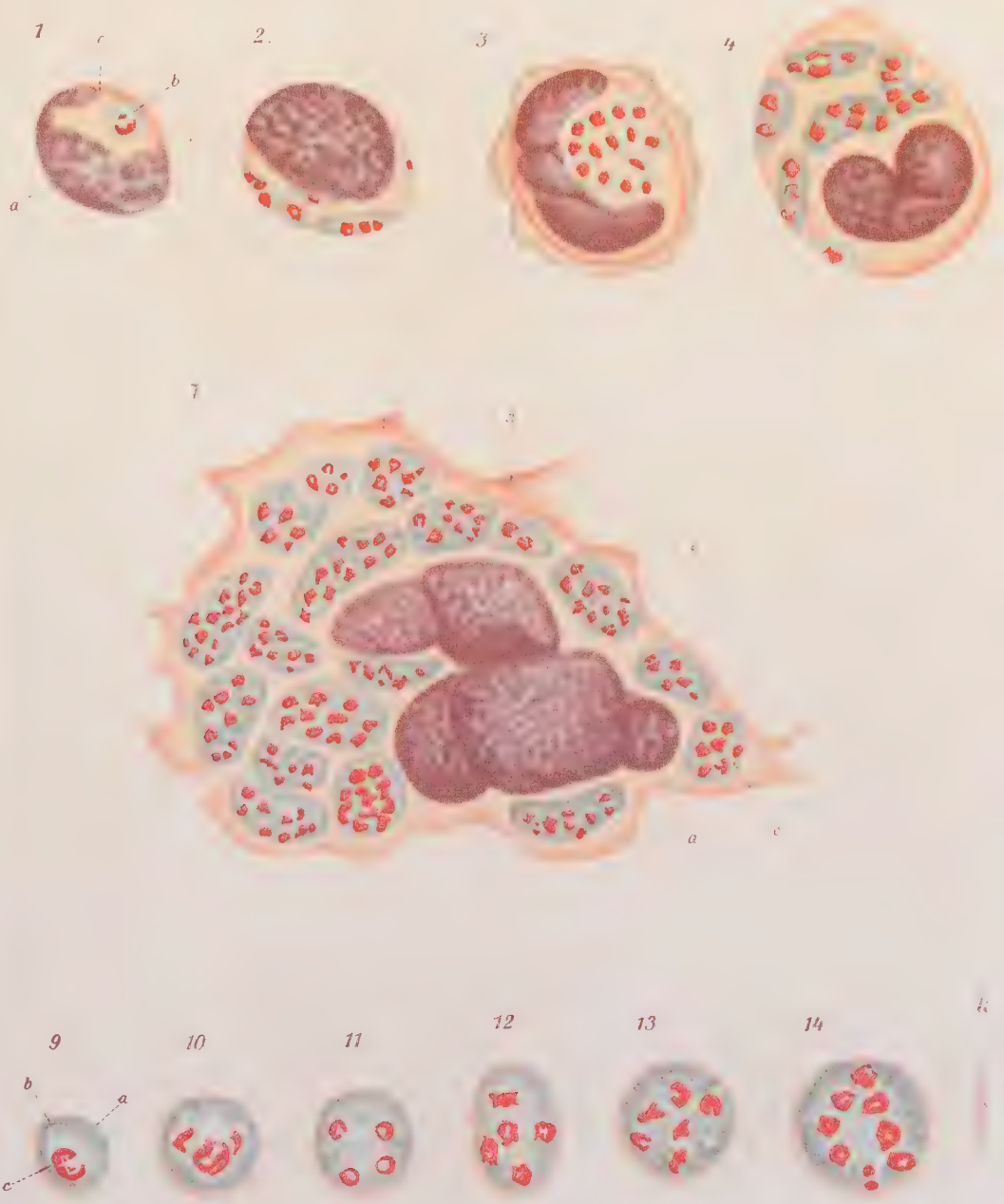
Fig. 19. Cyste. Phase der polygonalen Segmentierung des Protoplasmas.

Fig. 20. Reife Cyste mit vielen Merozoiten.

Fig. 21—23. Geplatzte Cysten mit heraustretenden Merozoiten. a) Cystenmembran. b) Freie Merozoiten.

Fig. 24. Taubenblut am Beginne der künstlichen Infektion mit *Haemoproteus*.
(Zeichnungen nach 1500 facher Vergrösserung. Fixierung mit Methylalkohol. Färbung nach Giemsa.)

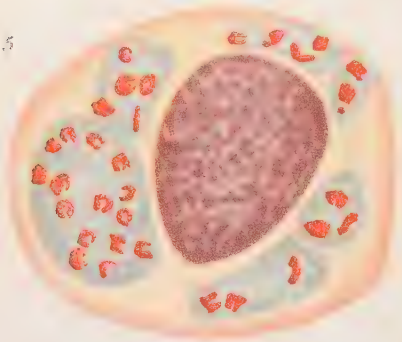
Fig. 25. Schnitt aus der Lunge einer künstlich mit *Haemoproteus* infizierten Taube. a) Cysten im Capillarlumen. b) Cysten in einem kleinen Gefässe. (Leitz' Zeichen-Kammera. Obj. Apochr. 2 mm. Färbung mit Methylenblau-Eosin.)

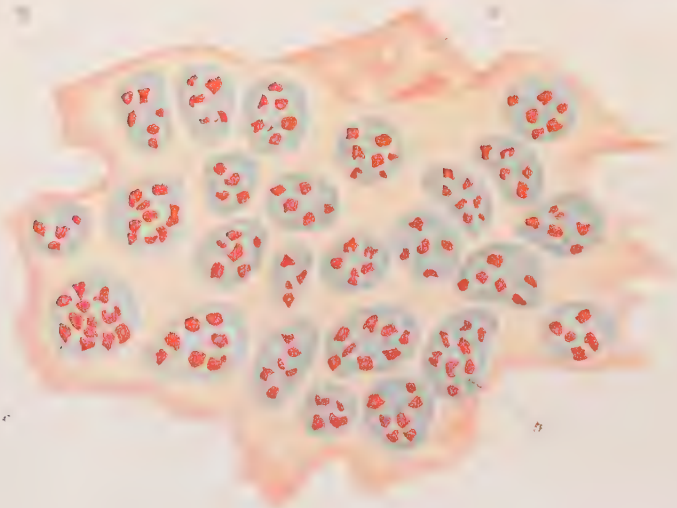


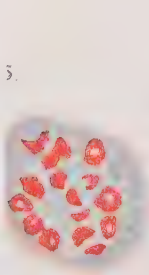
Castro Silva gez

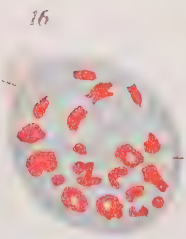
Aragao.

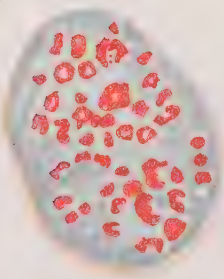
Verlag von Gustav Fischer

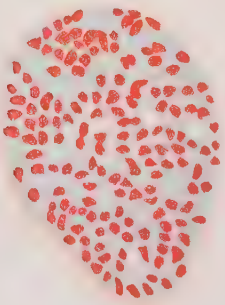








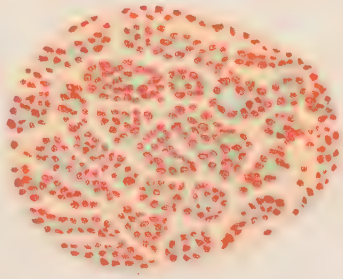




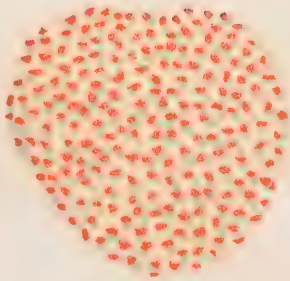
in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena

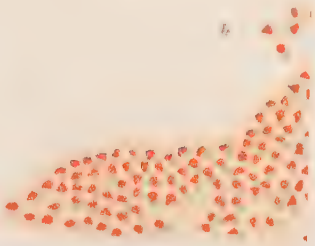
19



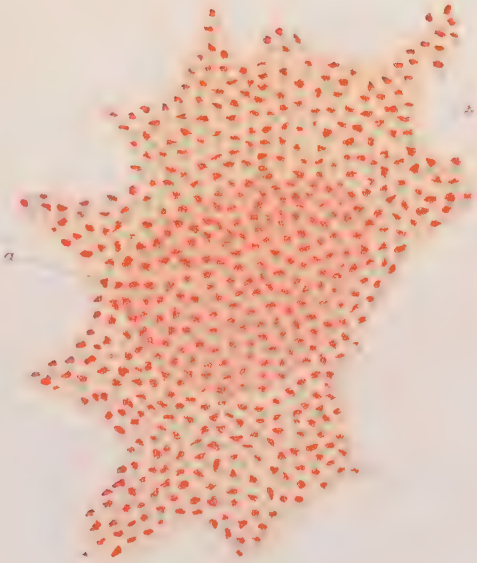
20



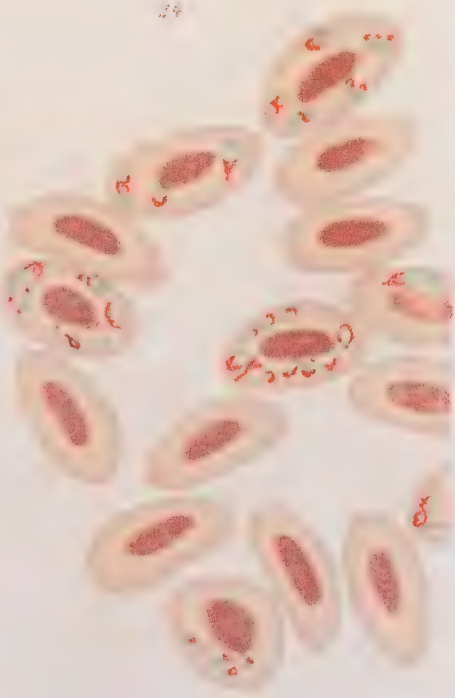
21



23



24



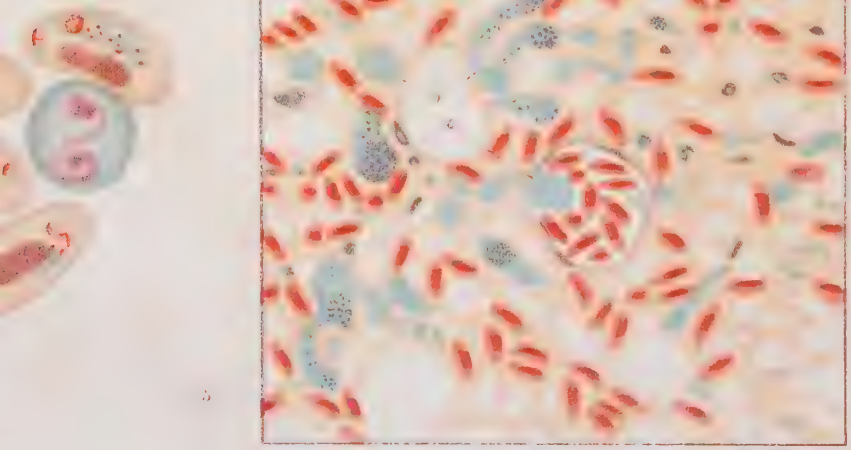
Castro Silva. gez

Aragao.

Verlag von Gustav Fischer

22

25



in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Observações biogeográficas e hidrobiológicas sôbre a lagôa de Maricá*

por

Lejeune de Oliveira
Chefe da Estação de Hidrobiologia, prof. de Hidrobiologia

Rubem Nascimento
Prof. de Hidroquímica

Luiza Krau
Assistente de Hidrobiologia

e

Arnaldo Miranda
Assistente de Hidroquímica

(Com 18 figuras e 1 aéro-mapa)

Ao sair de Niteroi, tomando a direção leste, encontram-se no litoral as lagôas de Piratininga e Itaipú. Há 7 anos, em 1948, Oliveira publicou estudos hidrobiológicos esboçados nestas duas lagunas (Mem. Inst. Osw. Cruz, vol. 46, p. 673-718). Agora fazemos algumas observações em outra lagôa, que se encontra a seguir, mais para leste, logo após a Itaipú. Trata-se da Lagôa de Maricá.

O sistema "Lagôa de Maricá" é composto de seis lagunas que se intercomunicam, tendo a margem sul reta e de areia, aproximadamente de 20 quilometros. As lagunas são: Brava, Maricá propriamente dita (ou Largo Grande da Lagôa de Maricá, ou Lagôa de S. José, ou simples-

---

* Entregue para publicação a 31 de janeiro de 1955.

** Os autores dedicam este trabalho ao jubileu científico do Professor Dr. Henrique de Aragão. Acompanhamos os seus estudos biológicos na Lagôa Rodrigo de Freitas. Quando diretor designou o Eng.º Agrônomo Dr. H. Velloso e a nós (Lejeune de Oliveira) para estudar as Lagôas de Piratininga e Itaipú, sendo nossa a parte hidrobiológica. Fomos designados por este grande cientista para observar a Lagôa de Maricá em 1949. Agora podemos apresentar resultados de trabalhos iniciados sob o seu animador estímulo e encorajamento para os problemas de campo e agronômicos. Nosso extremo reconhecimento de gratidão e homenagem ao Prof. Dr. Henrique de Aragão, o fundador da Estação de Hidrobiologia, em 1937.

mente: "Laguna de Maricá), Bacoparí, Barra, Padre, e Gururapina (ou Guarapina para outros, sendo que o Roteiro D.H.N. trás o nome Gururúpirá). A maior largura do sistema "Lagôa de Maricá" está na direção norte sul, vem desde Araçatiba até ao Zacarias (fig. 1).

Para iniciar qualquer exposição e mostrar suficientemente a região em que fizemos observações, elaboramos o mapa apresentado na figura 1. Este mostra a lagôa ao nivel do mar e um espaço hachurado em linhas verticais mostra a zona marginal que era outrora inundada quando a lagôa se enchia. Com vários dados condensados de várias fontes, como sejam: o nivel mais baixo tirado da Carta Municipal, Decreto Lei n.º 311, outros aspectos, da Carta Hidrográfica Rio de Janeiro até S. Tomé, outros da Carta Aerofotográfica de Maricá, n.º 2297 do Departamento Nac. de Obras e Saneamento, alem de informações e uma mapa aerofotográfico da Diretoria de Hidrografia e Navegação, é que foram organizados os mapas que apresentamos, para ilustração destas observações biológicas.

As margens interiores das várias lagunas esboçam um arco ideal que dá ao conjunto um certo feitio de lente semi-convexa, com o eixo maior reto e paralelo à praia oceânica.

De cartas na escala de 1/50000 obtivemos a superfície da lagôa, cuja aproximação só pretende ser suficiente para os fins biológicos do presente trabalho.

TABELA 1

Superfície Da Lagoa de Maricá

	No regime antigo (Lagoa cheia) Km2	No regime antigo, lagoa vazia, aberta a Barra da Emergência Km2	No regime moderno, depois de aberto o canal da Ponta Negra km2
1. Laguna Brava	.10	.075	.07
2. Laguna de São José ou Largo Grande da Lagoa de Maricá; ou Laguna de Maricá	20.50	18.30	18.40
3. Laguna de Bacoparí	4.3	2.6	3.61
4. Laguna da Barra	7.4	6.2	6.22
5. Laguna do Padre	1.6	1.2	1.20
6. Canal do Cordeirinho	2.9	.9	1.90
7. Laguna de Gururapina	9.4	6.6	8.60
TOTAL	**46.2**	**35.8**	**40.00**

Atualmente, a lagôa apresenta 40 quilometros quadrados, dado calculado pelo Eng.º Dr. Saturnino Braga, do Departamento Nacional

FIGURA 1. — Este mapa foi compilado baseado em várias fontes: da Carta Municipal fizemos a fase da lagôa vazia, do mapa da Diretoria de Hidrografia a lagôa cheia, as coordenadas foram obtidas da Carta de Navegação, e outros dados do mapa geológico de Alberto Lamego. A redução sai na escala de 1/ 180.000 já bastante suficiente para documentar a presente publicação. As estações mais importantes para a descrição destas observações estão enumeradas de 1 até 16.

de Obras e Saneamento, estando a lagôa na cota de 1.5 m acima do Zero Hidrográfico.

Mas não ha medidas feitas no tempo antigo, pode-se apenas dar uma idéia pelos vestígios horizontais marcados pela agua nas pedras da lagôa: a antiga linha do deixa mais alta foi a 1.2 m acima do atual nível da lagôa; a lagôa no tempo antigo quando aberta a barra oscilava com as marés, e por isto então, tinha o seu nivel médio tambem igual ao nível médio do mar, isto é, 1.2 m acima do Zero Hidrográfico.

Por estas indicações nós supomos que deva ter sido:

Nível máximo antigo, na lagôa cheia	2.40 acima do Zero Hidrográfico.
Nível médio da lagôa antiga	1.20 m (mesmo que o nível médio do mar)
Nível mínimo da lagôa antiga	O nível mínimo da maré, quando a barra estava aberta.

Assim sendo a superfície da lagôa na cota atual de 1.5 m e o nível antigo na cota de 1.2 metro, dá uma diferença de superfície para menos, isto é, talvez 35.8 Km^2 a antiga lagôa vazia (o que parece resultar em 11 quilometros quadrados a superfície do espraiado que antigamente ficava ora a seco, ora inundado).

A superfície da lagôa será em breve reduzida, devido ao canal do Cordeirinho, que é projetado com 2 quilometros de extensão e 80 metros de largo, isto é, 184 000 m^2; quer dizer que toda a região do Cordeirinho, que teve perto de 3 Km^2 de superfície com aguas, passará a ter apenas o canal com 0.18 Km^2, dando cerca de 2 Km^2 de terras a serem loteadas.

SONDAGENS. — Apresentamos um desenho batimétrico da laguna de Maricá, dando sondagens abaixo do nível atual da lagôa, isto é abaixo da cota 1.5 m hidrográficos. Computando-se rapidamente, vê-se que estas dão uma profundidade média de 1 metro; o local mais profundo é o canal entre o Boqueirão e o Zacarias, com 4 metros de fundo. As sondagens foram feitas com sonda de Friedinger, os pontos marcados no mapa da figura 3 foram obtidos pelo processo de Pothenot, teorema da carta, usando um sextantezinho de tipo simples, com leitura de 3 em 3 minutos de arco, adequados para fins de limnologia e pesca, apenas.

Desenhos das sondagens em outras lagunas não puderam ser expostos aquí, mas estão nas descrições a seguir, as indicações sobre profundidade; todas são razas, havendo somente próximo a Gururapina, o moderno canal do Cordeirinho com uma profundidade de 2 metros. Na tradução inglêsa deste trabalho ha dados também em milhas qua-

dradas, profundidades em pés, chuvas em polegadas, temperaturas em Fahrenheit, e outras medidas mais fáceis para quem venha ler a publicação nesta língua. No trabalho em português suprimimos estes sistemas de medidas.

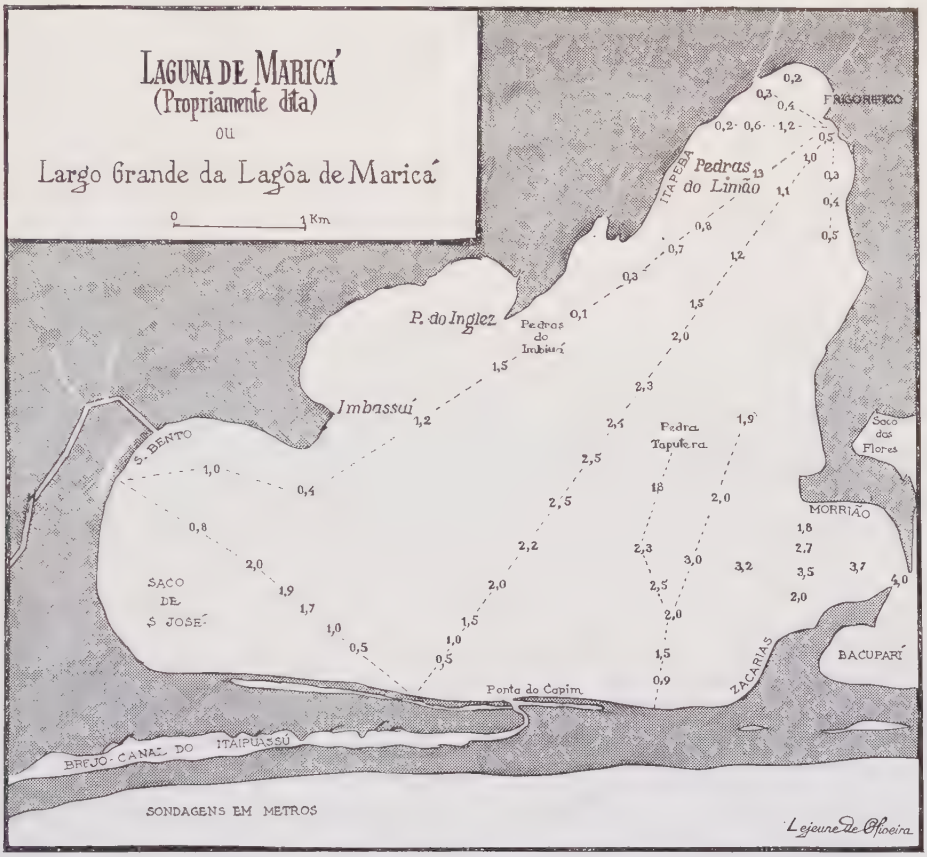


FIGURA 2. — As sondagens da Laguna de Maricá, também chamada de "Lagôa de São José"; outros chamam sòmente a uma parte desta de "Saco de S. José" Sondagens em metros, abaixo do nível médio do mar, com erro talvez de 8 a 15 centímetros, das marés dentro da lagôa, ora para mais, ora para menos do que o representado. A redução sai a 1/58.000.

METEOROLOGIA:

Como a biocenose de todo o lago ou lagôa é sempre afetada pelas condições atmosféricas, sumariamos algumas delas, sendo os dados compilados do Boletim Diário do Serviço Meteorológico. Limitamo-nos a mostrar na figura 7 a temperatura do ar e as chuvas, apenas no ano de 1951-1952. Por estas indicações já se pode ver que uma bôa parte do ano manteve-se entre 22° C e 26° C, tendo num dia somente, o mais frio, a temperatura de 12° C. O clima é pois tropical, o mês mais frio do ano apresenta média acima de 18°.

As chuvas caidas foram assim distribuidas, segundo a tabela n.º 2.

TABELA 2

1951,	Março	71 mm
	Abril	70 mm
	Maio	67 »
	Junho	51 »
	Julho	12 »
	Agôsto	31 »
	Setembro	36 »
	Outubro	80 »
	Novembro	75 »
	Dezembro	113 »
1952,	Janeiro	216 »
	Fevereiro	113 »
	TOTAL	932 »

Os meses em que cairam mais chuvas foram Dezembro, Janeiro e Fevereiro.

VENTOS. — A lagôa geralmente é lisa e espelhada na parte da manhã; aparentemente as pequenas ondas na superfície da lagôa somente são produzidas pelo vento que normalmente castiga as aguas na parte da tarde. As *Ruppia,* os lixo-capim são levados por estes ventos para as praias. Um vento sudoeste forte ou mais forte que o usual geralmente indica uma chuva torrencial que está por chegar.

Assim nos dias 4, 9, 12, 14, 20, 24, 25 de Fevereiro de 1952 sopraram ventos de NE com velocidade aproximadamente de 10 nós, estes empurraram os lixos capim, as *Ruppia,* para as Pedras do Limão, para a Ponta de Imbassaí; nos dias 7 e 8, ventos de SE espalharam mais os lixos no Saco de Mombuca, e ha uma massa de vegetais aquáticos flutuantes sempre mais ao sabor dos ventos, provenientes em grande parte dos vegetais fixos enraizados, cuja posição independe do vento.

Correntes ascendentes. — ha movimentos verticais na massa da agua, quando a superfície torna-se repentinamente mais fria, depois de alguns dias mais quentes. A camada muito superficial mais fria, ainda estando as camadas inferiores mais quentes, e por isto, menos densas; estas sobem, causam um reboliço, e vêm á tona com a lama mais negra do fundo. Este fenômeno é de ordem geral, ocorrendo em numerosas lagunas tropicais: logo que o tempo esfria, aparecem zonas com aguas mais escuras na lagôa.

BACIAS HIDROGRÁFICAS E HIDRÁULICAS. — Ha uma série de pequenos cursos de agua: riachos, corregos, que derramam na lagôa. Todos eles contem lama, são pardacentos por humus dissolvido, têm tanta matéria em suspensão que não se pode distinguir nunca o fundo quando se olha, estando embarcado em uma canôa.

Para avaliar as variações de salinidade na lagôa ha necessidade de que se conheça a quantidade de chuva caida nas suas bacias hidrográficas e hidráulica, expostas na tabela n.º 3.

TABELA 3

BACIAS	Superfície em km2
Montanhas do Inoan, Calaboca, (Rios Taquaraa, Inoan etc.).....	30.3
Montanhas do Macacos, (rios Madruga, Canal de São Bento, etc.)..	50.2
Montanhas Cassarotia, (rios, Buriche, etc.)	20.0
Montanhas Silvado, (rios Mombuca, etc.)..	64.0
Montanhas Cajú, (rios Cajú, etc.).....	18.0
Montanhas Jaconé, (Rios Doce, Bananal, etc.)..	47.2
Bacia hidrográfica.....	230.0
Bacia hidráulica....	40.0
TOTAL: Bacia hidráulica + bacia hidrográfica....	**270.0**

As áreas destas bacias foram avaliadas empregando-se a formula de Simpson, usando a divisão da área total em numero par de trapézios mistilineos, todos eles da mesma altura.

Mas ha dificuldades que ocorrem por conta das aproximações dos vários mapas consultados. Assim a Carta Decreto 311 tem o rio Cajú e um bloco da Serra do Cajú á leste da Laguna da Barra, outros mapas tem o mesmo bloco do lado oeste. São 1.3 quilometros quadrados que ora estão para lá, ora para cá da lagôa, é ora um aumento, ora uma diminuição da área da bacia de 1.3 Km^2; e assim como esta grande duvida, outras pequenas surgem.*

As salinidades diminuem como se tudo fosse ocorrido pelo processo das diluições sucessivas.** Tomemos, para exemplo teórico: Por hipotese, fazendo a Laguna da Barra em regime aberto, em que entrasse agua do mar padrão, a 34 por mil de salinidade.

Se em tal laguna assim a 34 por mil de salinidade caissem as chuvas de Abril, com 70 mm de precipitação, haveria: —

40 $Km^2 \times 70$ mm $= 28 \times 10^8$ litros; ora, sendo a profundidade média de 1 metro, teriamos uma regra de três:

Se 34 gr. de sal por mil ..... 40×10^9 litros
Darão X gr. de sal por mil ..... $40 \times 10^9 + 28 \times 10^8 = 428 \times 10^8$ litros.

A salinidade procurada é x = 31.7 por litro.

Mas as chuvas caem tambem nas montanhas, e daí pelos rios vêm ter á lagôa. Se as bacias tem uma area de 230 Km^2, ter-se-á:

230 $Km^2 \times 70$ mm $= 161 \times 10^8$ litros.

---

* NOTA. — Os seis mapas apresentados por nós só tem valor para nossas observações hidrobiológicas.

A lagôa passará a ter 428 x 10^8 161 x 10 litros de agua. Nesta nova massa d'agua ainda tendo o mesmo sal inicial, haverá então uma salinidade de S 30.6 por mil.

De acôrdo com as precipitações caidas em cada mês do ano, segundo o gráfico da figura 7, teriamos as seguintes salinidades (no limite máximo, sem contar os "0.6 de run-off"): Maio ..... 30‰; Junho .....28‰; Julho ..... 27‰; Agosto ..... 21‰; Setembro ..... 21‰; Outubro ..... 20.6‰; Novembro 11.4‰; Dezembro ..... 8.4‰; Janeiro ..... 5.6‰; Fevereiro .....4.8‰.

Mas tomando a evaporação e para isto usando a formula de Sverdrup: 1110 mm de evaporação na latitude de 22º55' até a latitude de 23º00', e tendo uma média anual de chuvas de 932 mm, teriamos: 1110/932 1.18, assim com o que evaporará em Fevereiro de 4.8. que seria de salinidade, será 4.8 x 1.18 5.6 de salinidade.

Lastimamos não poder fazer propriamente um estudo, mas apenas ligeiras observações, em parte porque nossas excursões são apenas de 3 meses cada ano, salteadamente, e para ver toda a hidrobiologia. As regras de diluição sucessivas são calculadas pelos hidrobiologistas por fórmulas muito análogas as do calculo de anuidades (que são calculadas logaritmicamente) e multiplicadas por vários coeficientes (defluvio, difusão, evaporação, infiltração, estratificação térmica, retensão etc...) achados na prática limnológica para cada lago, e experimentalmente em cada lagôa, quando estudada a sério.

Esta rápida notícia sobre este processo teórico, apenas aritmético, de diluições, é uma breve indicação de como se processa na natureza o fenomeno das diluições (se os líquidos fossem perfeitos, se as bacias fossem impermeaveis, etc..)

As referencias que fazem os pescadores, e as observações biológicas estiveram de acordo: a flora e a fauna de agua doce aumentava sempre gradualmente ao aumentar as chuvas, na época da cheia. Pode-se ver que (grosseiramente, teoricamente, e apenas aritmeticamente) já se tem uma certa idéia das enormes mudanças de salinidades ocasionadas pelas chuvas, que o biologista necessita obrigatoriamente de conhecer, quando estuda uma lagôa.

Pela cartografia que consultamos, as chuvas caidas na serra da Tiririca com seus picos Redondo e Itaipuassú (ou Falso Pão de Assucar) são as que vão á Lagoa Brava, que está ligada á Laguna de Maricá por um canal: o Canal de S. Bento, escavado e construido por obras de engenharia do Serviço de Saneamento da Baixada Fluminense, aproximadamente, tem 10 metros de largura na época da seca, e cerca de 20 m. pela época da chuva. Neste canal de S. Bento vêm ter os rios Preguiça, Madruga, S. José. As chuvas caidas na Montanha do Inoan descarregam na lagôa pelo Rio Madruga ao SE, e pelo Corrego Preguiça ao NW. A serra dos Macacos tem na parte ao sul do Pico da Cachoeira o rio S. José, e esta serra, com a Cassarotiba, e Calaboca fecham o vale do Taquara, de área cerca de 34,3 Km^2. Do Morro Grande vêm os rios Mombuca, que tem na seca 8 m de largo e na cheia de 10 a 20 m de largura. O Cajú com 6 m de largo próximo á foz, o

Rio Gambôa com 3 m junto á foz. O rio Doce é o maior, é perpétuo, tem 20 m de largura junto á foz. Neste esquema muito fraco, apenas informativo, anotamos 21 nomes dos rios e córregos que influem no regime da lagôa: São eles: Bambú, Madruga, S. José, Imbassaí, Cunha, Itapeba, Burriche, Salto, Novo Mombuca, Velho Mombuca, Ubatiba, Itapeteiú, Roncador, Cajú, Jacaré, Pedro Guedes, Carangueijo, Doce, Bananal, Engenho, Paracatú. Porque uns se chamam rios e outros córregos não sabemos, mas é conforme o mais usado pelo povo em dizer rio Madruga e não Córrego Madruga, e assim por deante.

GEOLOGIA

Segundo os estudos do grande geólogo, e eminente escritor, engenheiro Dr. Alberto Ribeiro Lamego, (Div. Geologia, Bol. 118) em Ciclo Evolutivo das Lagunas Fluminenses, sob o ponto de vista geológico, passaram-se os seguintes fenômenos. A formação de restingas de areias em Maricá, ocorreu após a era cenozoica, periodo terciário. As ondas do Oceano Atlantico nesta época arrebentavam, aproximadamente, onde são hoje as práias de Araçatiba, Boqueirão, Cajú, etc. O que foram antigas baias, enseadas, sacos oceânicos, que eram abertos ao mar, hoje são sacos de lagôa, completamente separados do oceano por uma faixa de areia. Imaginando-se não haver a restinga de areia que vem de Itaipuassú até Ponta Negra, ter-se-á aproximadamente uma idéia do que deveria ser a Baia de Maricá (terciária), a Ilha de Zacarias (terciária) e assim por deante. O esporão de areia da restinga foi iniciado em Itaipuaçú, foi crescendo de oeste para leste, foi fechando até ao Zacarias (que foi ilha, e transformou-se em peninsula), depois foi até Emergencia, e finalmente até Ponta Negra. Então a "Baia de Maricá" da época post-terciária foi tranformada na atual "Lagôa de Maricá". As montanhas são do período azóico, as barreiras de Boqueirão Morrião, Imbassaí, Zacarias são terciárias; as bocas dos rios são de alluvium, e as restingas são de areia, formação quaternária.

HISTÓRICO

Para melhor facilitar a nossa exposição vamos usar nesta publicação as expressões "lagôa antiga" e "lagôa moderna"; "lagôa antiga" reservada para uma certa parte do ciclo biológico da lagôa; seja do seculo XIX, sem fixar muito uma data certa, (ou seja desde 1836, da 1.ª carta do Almirante Mouchez) até dezembro de 1950, quando a lagôa seguia o regime de enchentes, e, usaremos a expressão "lagôa moderna" para 1951 até hoje, quando a lagôa permanece no nivel do mar, com muita pouca influencia das marés.

Para explanar a fase "lagôa antiga" dividiremos em vários períodos:

1/ período de diluições das aguas pelas chuvas, com várias mortandades causadas por hipotonia.

2/ período de lagôa cheia, em estagnação quase doce, oligohalina.

3 período de esvaziamento, por abertura artificial, e secamento das margens.
4 período da lagôa vazia, sob influencia das marés, em desequilíbrio por concentração dos sais, aumento de salinidade.
5 Lagôa fechada, separada do mar, entrando em estagnação meso e polihalina. Daí em diante começam as chuvas, e voltamos outra vez ao 1.º período.

Estes períodos são muito análogos aos que Oliveira descreveu para as lagôas de Piratininga e Itaipú.

LAGÔA ANTIGA

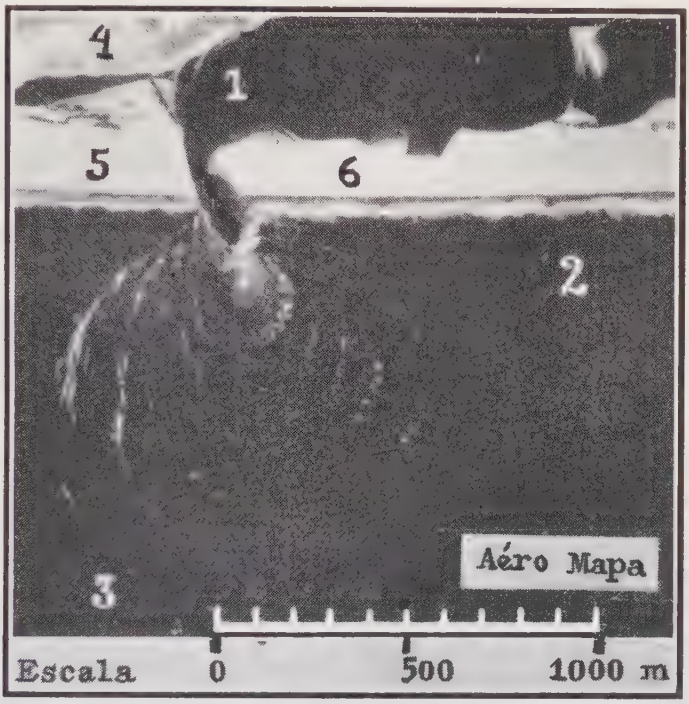
Do tempo da carta do litoral brasileiro levantada por Mouchez, em 1863, até hoje, já houve alterações na restinga de areia. As areias cresceram, as praias alargaram um pouco. Pelo crescimento da restinga, em 73 anos, já foi necessário colocar um aviso aos navegantes na carta de 1936. Esta carta de navegação, relatando o que este aviso quer dizer, ele tem, o seguinte sentido: Precaução: A costa entre Ponta Negra e o Falso Pão de Açucar está hoje mais ao sul do que está representado nesta carta, que quasi conserva a mesma linha de litoral do primitivo levantamento, que foi feito em 1863, com correções em 1918. Podemos avaliar que, a lingua de areia que separava a Laguna da Barra do oceano era mais estreita do que hoje.

LAGÔA ANTIGA, ÉPOCA DAS ENCHENTES

As aguas da lagôa chegaram ao seu nivel máximo ao cairem fortes chuvas desde Novembro de 1948 até Fevereiro de 1949. As estradas foram inundadas, para se ir até ao Boqueirão vários trechos estavam escorados com pedaços de madeiras e bambús, penosamente transitaveis. As margens da lagôa eram inuteis, alagadas, com numerosos brejos, milhares de pequenas poças onde cresciam exuberantemente os mosquitos. A salinidade baixou muitissimo, o conjunto florístico e faunístico dominante indicava agua doce: Algas *Spirogyra, Vaucheriaceae,* numerosíssimos insetos aquáticos: *Ephemerida, Odonata* entre as *Nymphaeaceae;* larvas de outros *Odonata* e *Trichoptera* entre as *Potamogenaceae; Hemiptera* entre as *Typha;* numerosos *Lepidoptera, Coleoptera* aquáticas; larvas de *Diptera, Nematocera, Culicidae* e *Anophelini;* exuberantemente crescia o *Anopheles tarsimaculatus,* o transmissor da malária; havia *Chironomidae, Hymenoptera Myriapoda, Arachnida,* e muitos sapos, cobras, jacarés, todo o conjunto mostrando uma flora e fauna de aguas doces (ou praticamente doces, oligohalinas). Em regime assim é que Oliveira assinalou o copepodo *Mesocyclops longisetus* (Thiebaud) que foi anteriormente descrito somente em aguas absolutamente doces, nunca em lagunas.

Como é regra geral em muitas lagunas litoráneas, na época das alagações, a área da laguna ia se dilatando, até que as aguas inco-

modavam os pescadores, até quase entrando dentro de suas próprias casas. Neste momento reuniam-se para sangrar a lagôa. Em Fevereiro de 1949 os pescadores e outras pessoas cavaram uma vala estreita na Barra da Emergencia, onde disseram ser de areia mais fofa, e "foi o local onde antigamente a lagôa se auto-esvaziava naturalmente, sem a intervenção do homem". Depois de horas a vala foi se alargando, a distancia entre lagôa e mar se encurtou, a rampa aumentou o declive, a descarga cada vez maior.



Aéro-foto n.º 1

Pela fotografia aérea, (com permissão da Diretoria de Hidrografia e Navegação, do Ministerio da Marinha), do mapa aerofotogramétrico da Lagôa de Maricá, que consultamos, podemos mostrar uns detalhes (Aero-foto n.º 1): a laguna da Barra em 1, o Oceano Atlantico em 2, o canal sangrador entre 5 e 6, sendo 5 a Praia da Emergencia, 4 o povoado de Zacarias. 6 a praia sul da lagôa da Barra ou povoado de Guaratiba. Vemos o sangrador que ficou com cerca de 80 metros na montante e com 120 metros a boca de jusante; o comprimento do canal cerca de 100 metros, como se pode medir pela fotografia aérea, cuja escala é cerca de 1 20 000. A violencia com que saia a agua fazia marolas ondeadas no oceano, no raio de pouco mais 1 kilometro, e a arrebentação formava um semi-arco de raio dos seus 250 metros, ao

redor da boca, que tinha que vazar 92 400 000 000 de litros, isto é: 46.2 $Km^2 \times (1.2\ m + 0.8\ m)$. As aguas oceânicas iam coloridas de pardo pelo barro que vinha da lagôa, formando arcos cada vez mais diluidos. Ora tendo-se os dados — 100 metros do canal sangrador, uma declividade de 0.025, as dimensões pela aerofotografia, pode-se calcular a descarga, facilmente, mas de modo aproximado pelas formulas de hidráulica.

Em cerca de 5 dias vazava o que estava acima do nível do mar, isto é, o de aguas das chuvas que aumentava 1.2 m na altura da lagôa (isto é 46.2 $Km^2 \times 1.2\ m = 55\ 200\ 000\ 000$ litros) em média dando uma descarga constante de 130 m^3 por segundo, até ao momento em que a lagôa ficava ao nivel do mar, uma vez escoada ela passava para o regime de marés, onde renovava os 37 000 000 de metros cúbicos restantes por descargas variáveis de acordo com a altura da maré, sendo que a lagôa ficava aberta até cerca de mais uns 20 dias, no máximo durante um mês.

Por todos os pontos onde os pescadores se reuniam, ou costumavam frequentar, liam-se editais como este: "Secretaria da Agricultura, Industria e Comércio — Inspetoria dos Códigos Rurais. Posto Fiscal de Maricá — Proibida a pesca de peixes brancos até o fechamento da barra, exposto no art. 58, dec. lei 784, de 19-10-1938, assinada em 2 de Março de 1949. Nero da Silva Bittencourt; fiscal da Caça e Pesca."

Junto com o plancton marítimo, as diatomáceas COSCINODISCUS, MELOSIRA, BIDDULPHIA, que são *Centrales,* e numerosos copépodos marítimos CALANUS sp. entravam tambem para a lagôa, as larvas dos camarões do genero PENAEUS, planctônicas e oceânicas, aí penetravam, talvez: porque fossem carregadas mecanicamente? para alimentarem-se melhor dentro das lagôas? talvez para fugirem de inimigos? ou para procurarem um ambiente mais quente?

O fato é que penetravam em massas arredondadas, como se fossem varias bolas indo sangradouro a cima, alcançando a lagôa.

Os camarões larvários ficavam nas lagunas que eram mais salgadas, como a Laguna da Barra e muito depois é que passavam para a Laguna de Bacopari. Os camarõesinhos na maioria passavam o dia se enterrando nos fundos macios e semiarenosos, ou se escondiam por entre as algas verdes ENTEROMORPHA, chamadas popularmente de "lixo— do camarão" e por entre os "lixo-capim" RUPPIA sp. Geralmente, com o cair da tarde, é que eles entravam em maiores atividades natatórias, invadindo pouco a pouco as outras lagunas. Não eram ocupadas pelos camarões do genero *Penaeus* nem as lagunas Brava e Guarapina, estas, mais confinadas com as aguas doces tinham poucos pitús, sendo alguns do genero *Macrobrachium*.

Assim como entravam os camarões, entravam tambem peixes marítimos. Depois de aberta, em cerca de 3 a 4 semanas, ou menos, a areia trazida pelo oceano fechava novamente o sangradouro, e a agua salgada pouco a pouco se misturava com a doce.

Nessas épocas antigas, as aguas que entravam faziam a laguna ficar em estagnação euhalina, ou polihalina, caindo lentamente até

mesohalina; assim a salinidade da Laguna da Barra, próximo ao mar, era 36 por mil, e 19 por mil nos pontos mais interiores; as aguas eram alcalinas, de pH = 8.2 até 8.0. Os camarões, peixes, sirís não puderam mais voltar para o mar. A 15 de Junho os pescadores da Colonia de Pesca de Maricá puderam apanhar os camarões, já comercialmente ótimos, e a salinidade desta laguna era de 19 por mil mais junto ao mar, e mais junto ás fozes dos rios Pedro Guedes, e Jacaré ia a 12 por mil; tais camarões estavam como no seu paraiso, pois que a produtividade era enorme. Tomando as informações de pescadores da lagôa, eles não afirmam conhecerem data muito fixa e determinada para as desovas dos camarões, mesmo porque as aberturas da lagôa foram as vezes irregulares, por causa de enchentes por chuvas torrenciais e rápidas, e muitas vezes tinha entrado camarão, quando não se esperava, mas de outras espécies do crustáceo, que talvez não fossem *Penaeus brasiliensis,* o mais comum. Este assunto é importante, e para ser estudado a sério demandará vários quinquenios por técnicos que a pesca de camarões, e á sua biologia se dedicarem. Várias as espécies entraram na lagôa: *Penaeus brasiliensis, P. setiferus, Sycionia* sp., *Leander* sp. Nós com poucas excursões feitas á lagôa não o podemos abordar.

Se o ano fosse um ano meteorologicamente normal, se desse cerca de 600 a 800 mm de chuvas, havia diluição nas lagunas; mas se o ano fosse sem chuvas abundantes, havia evaporação que compensava o que entrava pelos rios, e o regime polihalino permanecia por vários meses.

Os limites dos regimes nas aguas salgadas e salobras são, segundo Redeke, e no moderno conceito, segundo Hedgeth, 1953: regime euhalino, ou marítimo tendo a salinidade entre 30 e 40 por mil; o regime polihalino: 18.5 até 30 por mil; o regime mesohalino forte: de 10 até 18.5 por mil; o regime mesohalino fraco: de 1.8 até 10 por mil, e o regime oligohalino: de 1.8 até 10 por mil; abaixo de 1.8 por mil são as aguas "doces". Para as salinas, o nome dado ao regime é "metahalino", são as de salinidade maior que 40 gramas de sais por litro.

As aguas da lagôa de Maricá, nestas épocas eram equilibradas em regime marítimo, polihalino até ao mesohalino, e foram habitadas pelos seguintes animais: peixes, entre outros, a tainha de corso: *Mugil platanus* que no tempo antigo penetrava nesta laguna, a tainha da lagôa: *Mugil lisa* Cuv. & Val., corvina: *Micropogon* sp., as savelhas: *Brevoortia tyranus* Bean, e mais umas vinte espécies de peixes como: solteiras, pébas e canguru-pébas, bagres, bagres-gurís, salemas, enchovetas, faquécos, pampos, canhanhas, paratís, caratingas, carapicús, ubaranas e outros.

Entre os crustáceos do mar que penetravam na lagôa, alem dos camarões, temos o sirí puan *Callinectes sapidus,* que crescia muito bem, e o sirí candeia *Portunus spinimanus*. As caracas *Balanus amphitrite* var. *niveus* cresciam nas pedras e paus na laguna da Barra e na Laguna de Maricá. Entre os *mollusca* assinalaremos uma espécie que abundou na lagôa: *Solen* sp.

Todos estes animais e a alga *Enteromorpha* sp. aí viveram muito bem enquanto as aguas estavam alcalinas, e em regime euhalino até ao polihalino, diminuindo no mesohalino forte. Depois que as aguas baixaram de salinidade, depois que o pH caiu, eles desapareceram completamente.

Para melhor compreender a fauna antiga, mostraremos como entravam os animais na ultima vez que a barra de areia foi aberta.

ULTIMA ABERTURA DA LAGÔA DA BARRA. — No dia em que soltaram as aguas da Lagôa de Maricá no Oceano, através da Laguna da Barra, haviam 800 homens reunidos na Barra da Emergência; de noite, as 23 horas, já se achavam 500 com ferramentas, isto é, pás, enxadas, picaretas, e alí apareceram muitos comerciantes que se interessavam pelo camarão, e forneceram mais de 1500 garrafas do melhor dos paratís e outras cachaças de alta qualidade para dar a energia em calorias e a alegria ao trabalho que ia ser executado durante toda a noite. Era 7 de Maio de 1951, a lagôa estava no seu nivel máximo. O chefe da Colonia de Pesca, Sr. Francisco Sabino da Costa (que tinha sido chamado ao Rio de Janeiro) chegou á Barra da Emergencia as 21 horas, e falou procurando conter os pescadores, para que não abrissem tal barra, pois os engenheiros do Departamento de O. e Saneamento iam na manhã seguinte abrir a Ponta Negra, e se esvasiassem Maricá atrapalhariam a tomada de dados importantissimos de hidrologia que estavam preparados a serem medidos em Ponta Negra: medida de vazão, velocidade, desnivel, etc.... A agitação era enorme entre os pescadores, e o chefe da colonia não poude conter no seu impeto os pescadores de Maricá, que nunca tolerariam a Laguna de Maricá ser escoada através da Laguna de Guarapina. Afinal, á meia noite, começaram a remover a areia, e de madrugada quando entrava o sol, já a Maricá esvasiava para o mar, e este trabalho foi de fato, feito antes do de Ponta Negra. A Barra da Emergencia esteve então aberta durante 28 dias, isto é, desde 7 de Maio até 4 de Junho de 1951.

Foi a ultima vez que entrou agua do mar em Maricá por esta barra.

Com a entrada de agua do mar, entrou tambem formidavelmente o camarão *Penaeus brasiliensis,* a tainha *Mugil lisa* sendo que esta ficou uns 5 meses na lagôa: até Novembro de 1951, do mesmo modo entraram em grandes quantidades os paratís *Mugil curema* e as tainhas *Mugil platanus,* que são as de corso, e o corso passava em Maio por Maricá. Ora estes camarões e peixes só existem na lagôa porque vêm do mar, e entram quando ha profundidade suficiente na barra para entrarem. Durante o mês de Maio em que havia sempre comunicação da lagôa com o mar, com o sangradouro aberto, pescou-se muito o faquéco *Carangops amblyorhynchus,* tendo ele acabado assim que o mar fechou o sangradouro com areia, em Junho de 1951. Outros peixes que entraram foram: os pampos, e pampos galhudos: *Trachinoutus falcatus,* e as guaibiras *Oligoplites saurus,* em quantidade média, pouco menor que a de tainha. Os peixes do genero *Oxylabrax*

existiam em quantidade muito grande sendo eles os *Oxylabrax undecimalis* (o robalo), os *Oxylabrax parallelus* (a cangurupeba), e o *Oxylabrax ensiferus* (as pébas). Tambem quando a lagôa mantinha-se aberta havia peixes da familia *Eucinostomidae*, entre eles os carapicús verdadeiros — *Eucinostomus harengulus*, e, são da época de sangradouro aberto as pescas de caratingas — *Diapterus brasilianus*, de canhanhas — *Archosaurus unimaculatus*, as de salemas — *Anisotremus virginicus*, mas em quantidades bem menores que a dos outros peixes, assim tambem, como em quantidade ainda menor as corvinas marisqueiras *Micropogon opercularis*, e as corvinas de linha *Micropogon undulatus*. Cortando a comunicação do mar e a lagôa, naturalmente não mais entrarão tais peixes; os robalos que entram pequeninos crescem bem na lagôa e chegam a pesar 8 a 10 kilos cada um. Os camarões que entraram desta vez, em Maio de 1951, levaram somente dois meses a crescerem, isto é, já em Julho estavam bons, e foram pescados até Outubro e Novembro; estes eram de finissima qualidade, talvez os melhores que haviam no Entreposto de Pesca do Rio de Janeiro. Em muito grande quantidade havia a *Brevoortia tyrannus* (a savelha), mas esta entra em aguas muito rasas, entrando ainda até mesmo hoje, quando a barra está muito assoreada, mas ela é uma qulidade de sardinha sem saida no mercado (em outros países tem uso como matéria prima para o fabrico de adubo ou de ração para animais.) Estes foram os peixes que entravam na "lagôa antiga", e que pela ultima vez entraram em grande massa em Maricá, em 1951.

PRODUTIVIDADE. — a produtividade no regime antigo, de enchentes, era impressionante, um verdadeiro récord em lagunas: 3 mil e 416 toneladas anuais entre peixes e camarões, o que corresponde a uma pesca de cerca de 10 toneladas diárias; se tomar a produção em se dividindo pela área, dará cerca de 740 kilos por hectare por ano, o que é fabulosamente alta; (Compare 740 kilos por hectare, com as produtividades européas para lagos: — lago fraco: menos que 15 kilos; de produção média: 15 a 30 kilos; de bôa produção 30 — 45 kilos, enorme produção: pouco mais que 45 kilos por hectare por ano! — Naumann, vol. IX, p. 576).

HIDROQUÍMICA

Os principais componentes da agua do mar, junto á Ponta Negra, na estação 16 (16 — fig. 1), em 26 de Maio de 1953 foram:

Cl	20.51 g
SO^4	3.68
Mg	1.367
Ca	0.457

Esta agua é um tipo absolutamente local, sendo que as proporções entre os vários elementos diferem dos da agua do mar padrão; a

salinidade está um pouco maior, a clorinidade padrão é 19 gramas por mil, esta tem 20.51. Os sulfatos que deveriam ser 2.8, (já que os cloretos são 20.51, fazendo regra de três, com os sulfatos padrões), e o encontrado foi 3.68. A relação entre cálcio e magnésio manteve-se, como na agua do mar padrão. O pH encontrado foi 7.8, valor interessante para o local, bem mais ácido que o padrão (no oceano o pH é de 8.1 até 8.3). As demais análises estão expostas na tabela 6, coluna n.º 4. As definições de clorinidade, salinidade, foram seguidas pelo que recomendam Sverdrup, Johnson, e Fleming, no seu tratado de oceanografia "The Oceans".

TABELA 4

Resultados de análises na Lagoa de Maricá

ANÁLISE N.º	1	2	3	5	5
LOCAIS	Estação 5 (5 — fig. 1) Aracatuba junto a bomba do frigorifico (fig. 3) 9 maio1954	Pedra da Tapureta Águas de superfície 9 maio 1953	Estação 6 (6 — fig. 1) Fora do Morrião superfície 9 maio 1953	Cabal do Boqueirão entre 6 e 7 (fig. 1) superfície 10 maio 1953	Canal do Boqueirão, mesma que a anterior mas a uma braça de fundo 19 maio 1953
Resultados físicos:					
Densidade 20º/20º					
Densidade 20º/4Cº					
Côr da água mg. 1. de Pt		25.0	25.0	25.0	10.0
Resultados químicos:					
Clorinidade em Cl por litro (oceanográfica)		3.924	3.710	3.619	4.069
Salinidade em g. por litro (oceanográfica)		7.12	6.797	7.141	7.545
Partes % de água do mar, e água doce (oceanográfica)		20.6 de água do mar 79.4 de água dôce	19.5%	19%	21%
Sais inorgânicos dissolvidos:					
1. compostos nitrogenados:					
Nitratos mg. 1. de N		2.261	2.261	2.261	2.261
Nitritos mg. 1 de N		0.0	0.001	0.020	0.0
Amonea, mg. 1. de N		2.0	2.8	2.8	3.1
2. Fosfatos (orto) mg. 1		0.3	0.35	0.2	0.3
3. Cálcio mg. 1		66.944	70.198	70.198	70.198
4. Magnésio mg. 1		228.446	205.733	200.054	234.998
5. Sulfatos mg. 1. SO^4		400.703	391.652	408.931	418.805
6. Sílica mg. 1. (SiC^2)		12.5	12.5	12.5	12.5
Matéria orgânica dissolvida:					
Oxigênio consumido em meio alcalino m. 1		8.4	8.6	9.4	8.6
Gases dissolvidos:					
Oxigênio dissolvido mg. 1	10.0	8.2	6.6	8.8	—
Gas carbônico mg. L	—	0.0	.00	0.0	0.0
Gas sulfídrico mg. L. H^2S	—	1.429	12.973	0.558	14.498
pH		7.85	7.85	7.8	7.9
Alcalinidade afenolftaleina (equiv. $CaCC^3$ mg. L.)	—	5.0	5.0	6.0	6.0
Alcalinidade ao indicador misto, equiv. $CaCO^3$ mg. L.		60.0	63.0	60.0	62.0

TABELA 5

Resultados de análises nas lagunas de Bocaparí e da Barra

ANÁLISE N.º	1	2	3	4	5
LOCAIS	Laguna Bacopari Estação 8 (8, fig. 1) 16/maio/1953	Estação (9 — fig. 1) Saco das Flores 16/maio/1953	Estação 10 (10, fig. 1) Laguna da Barra 16/maio/1953	Estação 11 (11, fig. 1) Laguna da Barra (Superfície) 16/maio/1953	Estação 11 (Águas de fundo 16/maio/1953
Resultados físicos:					
Densidade 3º/4º	1 0048	1 0050	1.0049	1.0049	
Densidade 20º/4º	1 0029	1 0032	1.0021	1.0021	
Côr da água mg. L. de Pt.	15 0	20 0	25 0	25.0	45.0
Resultados químicos:					
Clorinidade em Cl g./L. (oceanográfica)	4 209	4 281	4.178	4.209	4.281
Salinidade em g./L. (oceanográfica)	7 900	7 967	8.130	8.200	8.020
Partes % de água do mar em água doce (oceanográfica)	22%	22 5%	22%	22%	22.5%
Sais inorgânicos dissolvidos:					
1. Compostos nitrogenados:					
Nitratos mg./L de N	2.666	2.261	1.826	4.123	2.261
Nitritos mg./L de N	0 0	0 0	0.0	0.055	0.001
Amônea, mg./L de N	2.8	3 4	3.4	2.8	2.8
2. Fosfatos (orto) mg. L	0 2	0 2	0.2	0.5	0.15
3. Cálcio mg./L	68 172	68.172	70.198	72.326	72.327
4. Magnésio mg./L	234 562	234 125	284.701	235.965	260.333
5. Sulfatos mg./L (SO^4)	400 703	415.515	451.715	617.100	546.716
6. Sílica mg./L (SiC^2)	12 5	12.5	12.5	15.0	15.0
Matéria orgânica dissolvida:					
Oxigênio consumido em meio alcalino, mg.L	9 8	9 6	10.6	7.20	10.20
Gases dissolvidos:					
Oxigênio dissolvido mg./L	8 4	8.8	8 0	7.4	—
Gas carbônico mg./L	0 0	0 0	0.0	0.0	—
Gas sulfídrico mg/L ($H'S$)	6 874	10 535	6.656	0.7	—
pH	7.7	7.75	7.85	7.80	7.8
Alcalinidade a fenolftaleina, equiv. $CaCO^3$ mg./L)	3 0	4.0	9.00	5.0	5.0
Alcalinidade ao indicador mixto, equiv. $CaCO^3$, mg./L.	60.0	62 0	60 0	60.0	60.0

TABELA 6

Resultados de análises nas lagunas do Padre e Gururapina, e no mar na saída de Ponta Negra

ANÁLISE N.º	1	2	3	4	5	6
LOCAIS	Estação (fig. 1) Entrada da Lagoa do Padre 16 maio 1953	Estação (11, fig. 1) No canal de Cordeirinho 16 maio 1953	Estação (fig. 1) Laguna de Gururapina 16 maio 1953	Ponta Negra, água do mar estação 16 16—fig. 1 23 maio 1953	Laguna de Gururapina Saída da laguna para o canal do Ponta Negra, a 200 metros do mar 23maio 1953	Laguna de Gururapina no canal a 1 000 metros do mar, debaixo da ponte da Estrada de Rodagem 23 maio 1953
Resultados físicos:						
Densidade 20º/4º	1.0055	1.0052	1.0049	1.0259	1 0058	1.0055
Densidade 20º/40º	1.0037	1.0035	1.0021	1.0241	1.0039	1.0037
Côr da água mg. L. de Pt	25.00	55.0	—	0.0	30.0	26.0
Resultados químicos:						
Clorinidade em Cl g. L. (oceanográfica)	4.56	4 28	4.6	20.51	4.8	4.7
Salinidade em g. L. (oceanográfica)	8.43	7.20	7.7	37 20	7 9	8.4
Partes de água do mar % em água distilada (oceanográfica, aproximadamente: Cl = 19%:100%)	24%	22%	24%	109%	25%	25%
Sais inorgânicos dissolvidos						
1. compostos nitrogenados:						
Nitratos mg. L. de N	4.1	4.5	4.1	1.826	2.6	2.6
Nitritos mg. L. de N	0.0	0.0	0.0	0.001	0.0	0.008
Amônea, mg. L. de N	2.8	2.8	3.7	2.0	2.8	2.0
2. Fosfatos, (orto) mg. L	0.45	0.5	0.5	0.05	0.5	0.02
3. Cálcio mg. L	72.3	74.4	80.7	457.4	74.4	82.9
4. Magnésio Mg. L	250.7	232.1	267.7	136.72	248.5	249.4
5. Sulfatos mg. L. (SO^4)	533.9	474.3	513.4	3689.7	515.9	515.6
6. Sílica mg. L. (SiO^2)	32.0	15.0	15.0	8.0	6.0	3.0
Matéria orgânica dissolvida:						
Oxigênio consumido em meio alcalino mg. L	12.4	16.0	13.0	1.4	12.8	10.2
Gases dissolvidos:						
Oxigênio dissolvido mg. L	8.8	6.6	3.2	—	6.8	7.6
Gas carbônico mg. L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Gas sulfídrico mg. L (N^2S)	1.8	11.3	25.3	0 .12	1.4	0.7
pH	7.9	7.95	7.2	7.8	8.0	7.8
Alcalinidade a fenolftaleina, equiv. $CaCO^3$ mg. L	5.0	5.5	—	32.0	11.0	5.0
Alcalinidade ao indicador misto, equiv. em $CaCO^3$ mg. L	72.0	65.0	65.0	130.0	82.0	77.0

A LAGÔA SANEADA

No vasto programa de saneamento da Baixada Fluminense entrou tambem a região de Maricá onde numerosos drenos foram feitos, muitos canais retificados e desentupidos, vários pântanos secos, e numerosissimos desvios de aguas estagnadas excavados. Pela enorme prática adquirida pelo Departamento Nacional de Obras e Saneamento ficou provado que a lagôa somente se manteria em comunicação permanente com o mar (sem obstruções intermitentes da barra por areias) se um canal fosse aberto em litoral rochoso. A Barra da Emergencia não mais utilizada, pois era aberta pela força viva da agua, e não havendo mais enchentes, não poderia haver mais os 92 milhões de toneladas de agua cujo escoamento era o que rasgava a barra de areia e a abria em sangradouro. O canal foi aberto comunicando Gururapina com o mar, em rochas próximas da Serra Negra, onde está a Ponta Negra. A 8 de Maio de 1951 foi inaugurado. A lagôa deveria passar do antigo regime de enchentes, para o novo regime de marés. As áreas marginais que eram inundaveis passaram a ser permanentemente secas, numerosos pantanos, charcos, poças secaram, e a área total que foi enxuta tinha cerca de 6 quilometros quadrados, tendo a lagôa tambem diminuido o seu perímetro.

Pelas obras de engenharia sanitária, e também pela ação química dos inseticidas do grupo do DDT que foram empregadas simultaneamente, a malária foi eliminada de toda a região com sucesso jamais obtido anteriormente.

As novas áreas que eram submersas e hoje estão a seco ou a quasi seco, estão sendo povoadas por comunidades florísticas e faunísticas pioneiras que podem fornecer interessantes estudos ás investigações ecológicas.

PERFIL BIOGEOGRÁFICO

A praia leste da laguna de Maricá chama-se Araçatiba (Estação 5; 5 fig. 1; e fig. 3 fotografias fig. 8). Quando a lagôa esteve em nivel baixo, em 17 de Março e pouco depois (isto é, na cota de 1.2 m) junto ao Frigorífico, a praia úmida tinha quase dez metros de largura, ora um pouco menos para cá, ora um pouco mais para acolá, era parda, meio arenosa e meio argilosa, cheia de depositos de humus, e com *pilae* atiradas pelas ondas mansas. As *pilae* eram como bolas do lixo-capim *Ruppia maritima,* amassadas, já meio deterioradas, de seus 1 a 2 palmos de diâmetro aproximadamente, muito roladas. Nas *pilae* outras plantas aquáticas: *Potamogenaceae* muito parecida com *Myriophyllum,* umas mais secas, outras mais úmidas, todavia vieram arrastadas pelo vento. Cerca de 3 pilae por cada metro quadrado. Na parte mais junto á agua, as *Melita lagunae* (*Amphipoda*), muito vivas, nadando por entre as *pilae,* quando estas estavam dentro da agua.

FIGURA 3. — Mapa da vegetação aquática enraizada, raza, notando-se que as ulotricáceas estão sobre *Rupia* mortas, ou quase mortas (digamos, "abafadas" por tanto "lixo-cabeleira"). Escala topográfica de 1/14.300.

Seguindo a estrada, contornando o leste da laguna, indo para o Boqueirão, aparecem por 3 a 4 vezes aquí, depois muito mais longe, cerca de 1 dúzia de pedras muito arredondadas, tendo fora da agua somente 1 a 3 palmos; nelas vêm-se nitidamente a zonação morta das caracas *Balanus amphitrite niveus*. As caracas já mortas ha muito tempo; só estiveram vivas no regime marítimo e no polihalino. Na "lagôa antiga" estes cirrípedes sésseis creciam rapidamente em poucos dias, ocupavam a zonação que lhes era peculiar: do nivel médio do mar até a altitude de 0.5 metro. Hoje somente encontramos suas carapaças prezas na pedra. Nesta praia, tanto no tempo da lagôa antiga como agora, encontramos alguns carangueijos "catanhem" *Chasmagnathus granulatus* e os caramujinhos "grão de arroz" *Limnaea* sp. aos milhares, vivos. As conchas de "unha de velho", *Solen sp.*, se acham no barro, as vezes soltas, as vezes enterradas, mas atualmente todas mortas. De vez em quando, as partes úmidas das praias, de preferencia as mais argilosas, as de barro mais vermelho, ficavam cobertas por tapetes formados por várias algas *Cyanophyceae* e entre estas encontramos OSCILLATORIACEAE, que em pleno desenvolvimento davam um brilho metálico, azulado denegrido. Eram uns 12 metros de largo, o que foi barro vermelho; depois de ressecado, formava umas cascas que quebravam-se em mosáicos, sendo estes com uma película verde azulada por cima. A salinidade orçava por 8 por mil, estava em pleno regime oligohalino; havia milhares de insetos. Quando as chuvas cairam muitissimo fortes, nós encontramos nestas praias 4 carangueijos "catanhens" (*Chasmagnathus granulatus*) mortos por cada metro quadrado.

DA PRAIA DO MOMBUCA ÁS PEDRAS DO LIMÃO

Em Abril de 1953, saindo do Frigorífico, mesmo alí no cais, já encontramos uma enorme porção de plantas aquáticas, cuja parte geográfica esta representada no mapa da fig. 3. Vê-se em "intensa vegetação aquática", uma parte mais próxima de terra, que além de ser muitíssimo rasa, pode ter pequenas plantas que além de ser muitissimo rasa, pode ter pequenas plantas enraizadas. A proteção dos morros contra os ventos forma uma quasi permanente calmaria sobre as aguas, paradas, nunca movimentadas. Saindo da praia de Araçatiba, no quadrante oeste, vemos moitas de tabuas na praia do Mombuca, e vamos muito dificilmente passando a remo por cima do emaranhado dos "lixos": o lixo-capim, a Najadacea *Ruppia maritima* L., o "lixo rabo de raposa" um *Myriophyllum* (*Myriophyllum brasiliensis?*) outras *Potamogenaceae*, que ficam tendo entre elas uma agua de salinidade 3 por mil, relativamente mais claras e transparentes, porque as aguas quietas deixam o sedimento no fundo. *Ruppia* e *Chara* estavam florindo neste Abril. Neste local o fundo é pouco mais arenoso, mais firme, tem muita casca de molusco SOLEN. Note como as CHARA de Maricá vivem em aguas rasas, tão diverso do que lemos nos tratados de hidrobiologia europeus, onde as CHARA formam uma zona começando a cerca de 8 até 12 metros de profundidade. A CHARA tem o nome popular de "lixo roseta", conforme já falamos ao tratar da Lagôa de Piratininga.

Parece-nos que o bote vai passando em cima de gigantescos canteiros, sub-aquáticos. (Imagine-se, para comparação grosseira, o aspecto de um môfo que forma uma película bolorenta por cima de uma compota estragada, e cheia de ilhotas esverdeadas de cogumelos; imagine isto, e passe pensando, em vez de escala de milimetros para escala de kilômetros). As moitas dos lixos, sub-aquáticas, e vivas, são cheias de muitas bolhas gasosas, oxigenando a agua; ha locais com algas filamentosas como cabelos, os "lixo de limo", *Ulothricaceae*. As ilhotas são constituidas ora de uma só espécie de vegetal, ora de várias. Pode-se ter gas sulfídrico na vaza do fundo, e paradoxalmente, a agua de cima ser muito oxigenada. Quando o barco agarra, e torna-se impossivel o remar, tem-se que empurra-lo á vara, ou então, como este solo é firme, descer e puxa-lo, andando a pé entre os lixos.

Uma área de cerca de 25 hectares no Mombuca é toda "suja" pelos "lixos", tem 0.1 m até 0.5 m de sonda, raro chegando a ter 1 m. Notemos que estas zonas marginais são as que mais alimentam os peixes, e que deviam ter na lagôa cheia, antiga, mais 1.2 m de profundidade: assim onde hoje é 0.1 m, era: $0.1 + 1.2 = 1.3$ m., e eram aguas oxigenadas pelos vegetais. A lagôa perdeu muita superfície criadora para peixes e camarões, mas enfim, ficou saneada. Por cima desta vegetação existe um outro habitat a ser estudado demoradamente: é o *neuston*, a pelicula por cima dagua, que abriga uma flora e fáuna peculiares: muitas microlemnas; folhinhas pequeninas, muito verdes, muito estriadas, e por cima delas andando numerosos insectos, aracní-

deos, e junto a elas crustáceos cladóceros, etc. De vez em quando passa-se de canôa em uma pequena massa de "lixo de algodão verde", uma outra clorofícea a ser futuramente identificada, verde cobreada, muito berrante. Mais próximo a foz do Rio Mombuca, quando se piza do fundo, este solta numerosas bolhas de vários gases dos pantanos: gas sulfídrico, metana, fosfamina (?) com o máo cheiro característico. A lama do fundo é preta, azulada. Cada ilhota de lixo tem o seu ½, ou 1, até mesmo chegando a ter alguns 3 hectares, formam um mosáico por cima das aguas. No mapa da figura 3 está o aspecto topográfico. Antigamente não havia o pasto que ficou a descoberto no Mombuca, que serve hoje a várias dezenas de cavalos (fig 14, n. 1). (As *Ruppias* começam em n.º 3, fig. 14).

Notemos que os "lixos" carregados pelos ventos tem um aspecto algo diverso destes "lixos" vivos e no seu habitat de máximo desenvolvimento. Próximo a foz dos rios: as *Eichornia crassipes, Azolla* e *Lemna* flutuantes, e uma côr verde na agua por *Protococcales* planctônicas. Esta região está se aterrando rapidamente, em poucos decenios teremos um aspecto diverso do atual.

ATÉ AS PEDRAS DO LIMÃO

Notar que nem toda esta exposição foi traduzida para o inglez, por muitos detalhes serem exclusivamente de interesse local.

Na frente do Frigorífico, a cerca de 50 metros deste, está um pequeno cais (1. — fig. 10) mandado construir pelo Dr. Domingos Abbes, onde deixamos o bote atracado. Dalí avista-se, do outro lado da lagôa, uns pontos brancos na superfície das aguas, bem no rumo WSW: são as Pedras do Limão, distantes de 2.8 Km. Mais para sudoeste outras pedras, a 3.1 Km as Pedras do Inglez. Em 13 Mar. 51: junto ao cais, aguas negras; a 400 metros do cais, sondagem marcada no mapa da fig. 2, cujo ponto foi tomado assim: a igreja do Amparo a ENE 73º; o Frigorífico a E 90º30'; a balisa de nivel da lagôa a ESE 115º, barranco ao sul 181º, faz-se o segmento capaz do angulo dado, acha-se no mapa o ponto.

Então, neste local, aguas côr de agrifólio, CUC 301, transparencia 0.8 m ao disco de Secchi. Tirando-se o efeito de fundo com o disco branco, a côr que fica para a coluna d'agua é verde bistre, CUC 217 a 261, côr esta motivada por *Protococcales*. A distância de 1 quilômetro do cais, onde quasi sempre tem umas marrecas de lagôa nadando, alí não ha *Ruppia,* a agua é de côr *atrovirens* CUC 307, e depois volta ao aspecto comum, e chega-se até as Pedras do Limão. As Pedras do Limão são brancas e redondas por cima, sujas por fezes de aves, são cagarras ("cagarras" como dizem os marinheiros, para não dizerem *sujas* por aves). Abaixo do topo que é branco, as pedras têm uma faixa de côr cinza, CUC 514 a 515. Algumas, digamos, tem mesmo o feitio de meio limão fora da agua. Este local escolhido pelas aves imbiuá para seu pouso parcial, durante a sua pesca, e tem um adubamento todo especial, e é onde crescem as algas em cabeleira verde, *Ulothricaceae,* muito

densas e muito viçosas, côr verde CUC 301. Ha uma lista verde de outras algas clorofíceas de outra familia que não ulotricácea. Viam-se ao redor e entre as pedras limão as caracea de uma côr verde *oleagineus* CUC 326, muito exuberantes, agora em Março de 1953. Entre e andando sobre estas plantas ha numerosos "caramujinho arroz" *Lymnea* sp. muito vivos. Por fora das pedras, e no meio das mesmas, ha numerosa quantidade de *Eichornia* e de *Ruppia,* mas que se acumularam, porque vieram trazidas pelo vento e acharam nestas pedras um obstaculo. Agua: salinidade 5.3. Das Pedras do Limão até a Ponta do Inglês as aguas são todas rasas, com menos de 1 metro de fundura, e com muitissimas pedras á flor da agua, tem-se que ir a remo e com cautela; todas estas pedras, junto com as do Limão, se espalham dentro de uns 4 hectares. Tais aguas são totalmente tranquilas e espelhadas. Ouve-se sempre e constantemente o barulho, parecendo com o que faz o porco roncando, das aves pretas, os imbiuás, que gritam com uma vóz muito grave. Nunca encontramos o "lixo de camarão" — a *Enteromorpha* sp. — por estes locais.

Ha uma pequena praia, próxima ás Pedras do Limão, que segue o rumo 148º verdadeiros, onde ha uma centena de pedras de meio a um metro de altura, as Pedras do Inglês, a praia passa a seguir rumo 215º SSW, encontramo-nos na Ponta do Inglês. Vemos da praia uma linha de deixa constituida por fezes de bois, cavalos, tendo até 2 metros de largura, misturadas com *Eichornia* mortas, entre as fezes, *Eichornias* e pedras estão numerosos carangueijos catanhens; daí segue a rampa de praia. A zonação sumariada é: 1/ pedras; 2/ carangueijo *Chasmagnathus* 3/ fezes de gado; 4 o gramado, entremeado de *Portulaca* e *Paspalum* sp.; 5 uma salsa brava da praia campanulada: *Ipomaea* sp.; mimosas, *Mimosa* sp.; vários pés de joás ou juás, *Solanum sisymbrifolium;* de vez em quando umas folhas da fortuna, *Bryophyllum* sp.; alguns pés de pitangueira: *Eugenia pitanga*.

Por vezes encontramos um esqueleto de cavalo, ou boi ou cabra. 6/ por último a vegetação terrestre: impossivel de ser estudada por nós aproximadamente como as expostas a seguir, no Morrião.

O PENHASCO DO MORRIÃO

Saindo do cais do Frigorífico e navegando, dando bombordo á Araçatiba e á estrada para o Boqueirão, no fim de 2 quilometros e meio vamos chegar ao Morrião, mudando a prôa para ESE vamos entrar na Laguna de Bacoparí, passando pelo canal de Boqueirão.

Nesta viravolta depara-se com o barranco do Morrião. E' relativamente alto, quasi nú, vê-se ao longe suas faixas coloridas de laranja, entre listras brancas, outras listras castanhas dispostas verticalmente e umas manchas obliquas de côr "ocra d'Algeria." E' ingreme, sobe verticalmente, é dificil escala-lo. Saltamos na estação 30 (30, mapa da fig. 4), neste ponto e a superfície das aguas uns desfolhados de rochas, de côr meio violácea, seguindo 264º ooeste, e aliás, vários destes,

cada um cerca de seus 5 a 10 metros, reprezam um pouco a pequena correnteza da lagôa, e é o local onde ha as *Ruppia* enraizadas, com ulotricaceas emaranhadas. Na praia ha uma faixa formada pelas mesmas rochas, de 1 a 1.5 metro de largura, depois é que vem o desbarrancado, com 4 a 6 metros de largura, mas só de terra vermelha de barreira (terciário). Nariz do Morrião é uma parte que avança mais por agua a dentro. A 20 metros NW deste ha outros desfolhados, e neles, grande quantidade de fezes de cavalos e *Ruppia*. Em altitude de poucos centimetros: a zona gramada e de quando em quando uma *Portulaca*. Ha debaixo do penhasco uma grota, revestida de centenas e centenas de cascas do carangueijo *Chasmagnathus,* que talvez sejam levados aí por algum animal silvestre. Na praia vem ter as mesmas *Eichornia* mortas. Passado o nariz, para o SE é que ha praias mais arenosas onde ha cascas de SOLEN e ha o amphipoda, é diversa da outra parte. Na zona desbarrancada do Morrião ha a vegetação terrestre, comum; entre as numerosas plantas foram colhidas: um ingá *Inga maritima*: Leg. Mim.; umas quaresmeiras, cujas flores roxas enfeitam os montes no primeiro trimestre do ano, *Tibouchina* sp.: Melastomaceae; aroeiras de cheiro, *Schinus terebentifolius*: Anacardiaceae; e varias espécies de *Cassia,* de flores amarelas: Leg. Ces.; orquidáceas *Epidendron ellipticum* e mais outras plantas — *Pteridophyta*: as polipodiáceas *Pteris aquilinum,* fétos epífitos do genero *Polypodium,* tambem outra samambaia do genero *Pteris*. Uma samambáia de folhas dicotômicas: gleicheniácea, *Mertensia* sp., e uma espécie de *Schizeaceae* herbácea do genero *Lygodium; Lycopodiales*: um *Lycopodium* sp. epifito. Várias espécies de ciperáceas, entre elas 3 espécies de *Cyperus* sp., e uma tiririca de beira de lagôa; várias gramas, muitas forrageiras: *Andropogon* sp., *Paspalum densum*, *Sectaria* sp. Entre as orquídeas: *Vanilla* sp.; *Epidendrum* sp.; Das *Farinosae* ainda foram encontradas várias *Bromeliaceae;* Duas *Commelinaceae*: do genero *Commelina* e do genero *Chorisandra*. *Dicotyledoneae*: a poligonáce *Coccoloba populnifolia;* a portulacácea *Portulaca* sp., "doze horas" nas margens da lagôa, e muito cultivadas nos jardins das casas de Maricá; entre as leguminosas: *Cassia* sp. e *Aeschinomene hispida; Euphorbiaceae*: *Phyllanthus* sp. um "quebra-pedras" e uma planta leiteira: *Alchornia triphnervia*. Várias cactáceas. A *Nyctaginaceae*: *Pisonia campestris;* umbellifloras: as *Umbelliderae*: *Centela asiatica,* e uma das "salsas da praia": *Apium australe*. Um arbusto da familia *Myrsinaceae.* Uma espécie arbustiva da familia Borraginaceae: *Cordia verbenacea,* a tupiçaba *Scoparia dulcis* (escrofulariácea); dois arbustos da fam. *Rubiaceae;* uma verbenácea: *Lantana nivea;* Solanácea: *Solanum* sp.; uns juás: *Physalis* sp. e entre as Compositae: *Eclipta albiflora, Ethulia comysoides, Emilia sagitata, Eupactorum* sp., *Pluchea* sp., *Eregeson* sp.

Este aspecto natural do Morrião está para desaparecer dentro de algum tempo, pois conforme se pode ver no mapa da figura 4, já se acha em loteamento, já iniciados os trabalhos de escavação e movimento de terra em várias ruas.

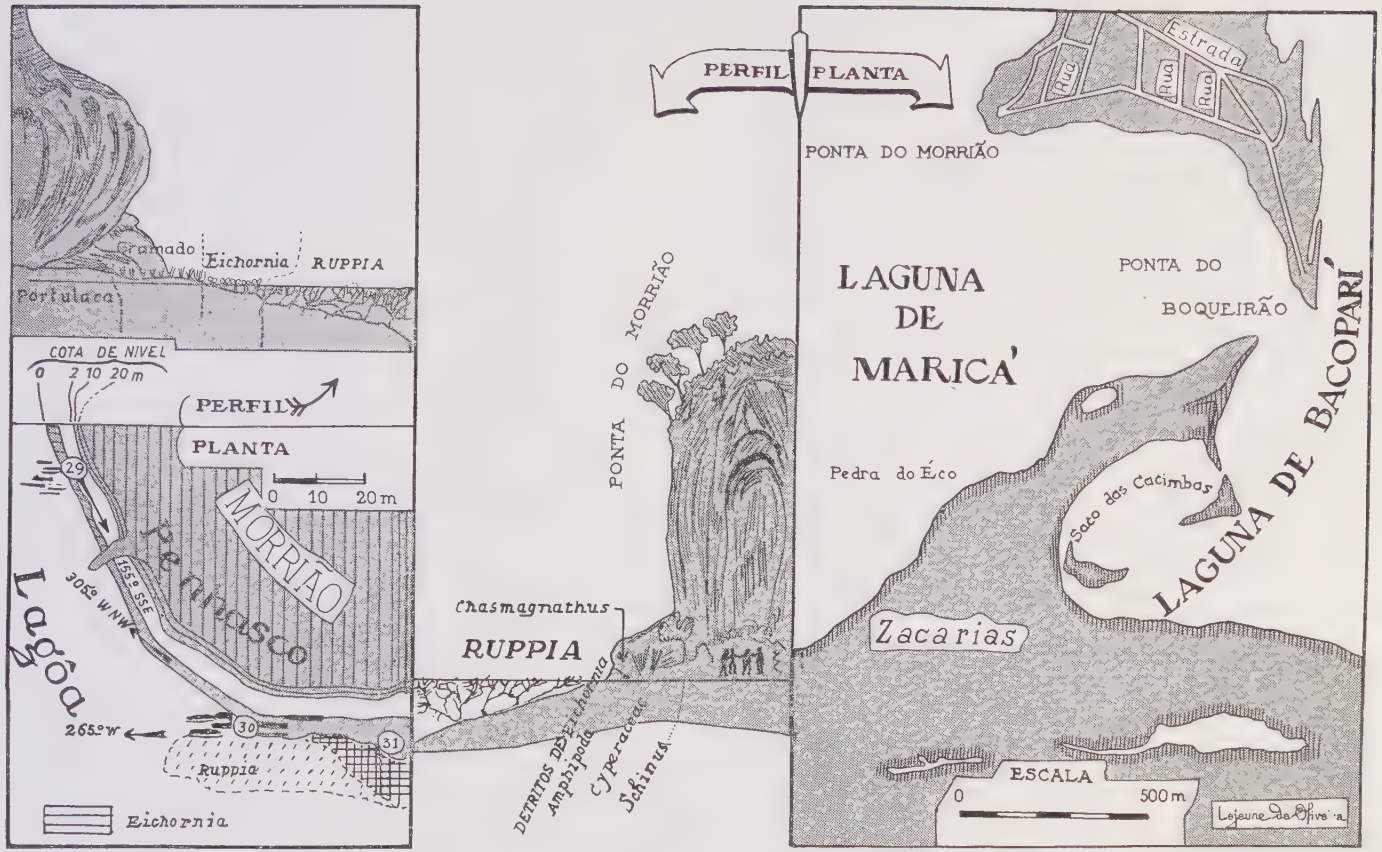


FIGURA 4. — O Morrião, de barro vermelho, entremeado de ilstras de várias cores: branca, amarela, violeta, que se desbarranca de vez em quando. As zonações na praia, e as aquaticas estão representadas.

Nós lembramos novamente que estas plantas foram determinadas pelo Prof. Geraldo Kuhlmann, antigo diretor do Jardim Botânico, quando estava dando um curso de Sistemática Botânica no Instituto Oswaldo Cruz; estas plantas serviram de trabalho e tema de estudo para os alunos, que sob a orientação do grande cientista viram como classifica-las. Tornamos a agradecer ao Prof. Kuhlmann.

SONDAGENS DE ARAÇATIBA ATÉ ZACARIAS

Em 14 de Março de 1953: Largamos do cais do Frigorífico. Rumamos prôa 218º SW, e dentro do primeiro quilometro as sondagens deram: passa 1 centena de metros ..... 5.0 m de fundo; passa 2 ..... 1.0 metro; passa 3 ..... 1.0 metro; passa 10 ..... 1.1 metro; passam 2 quilometros ..... 1.2 m; passam 2½ ..... 1.5 metros de fundo; passam 3 ..... 2 metros de fundo. Nestes locais a côr das aguas, tomada da canôa, era bistre; transparencia de 60 centimetros ao disco de Secchi; tirando o efeito de fundo a côr era ultramar-amarelo 265 CUC, causada por diatomáceas dos generos RHOPALODIA e NITZSCHIA. A diatomácea TERPINOSOE AMERICANA parecia comum neste local (Em futura publicação trataremos deste plancton). Daí emproar sul para Taputera, chegando a Taputera, 2 metros de fundo; junto ás Pedras da Taputera as aguas já são de côr bistre, 262 CUC, a transparencia é de 70 centimetros. Para dai rumar para Zacarias — prôa no sul: passam 3 00 metros ..... 1.8 m de sonda; passam mais 300 metros ..... sonda 2.3 m; passam mais 300 metros ..... sonda 2.5. Via-se daí a praia do Zacarias a 2½ quilometros, as aguas estavam canela esverdeadas, e quanto mais se aproximava de Zacarias, mais se esbatia a côr para o 310 CUC, em aguas de 2.0 metros de fundo. Diverte até a praia, e volta prôa no norte, de Zacarias passam 200 m ..... 0.9 m de sonda; passam 400 metros ..... sonda 1.5 m; passam 600 metros ..... 2 metros outra vez. Estas sondagens são as desenhadas no mapa da figura 2.

Notemos que os pontos marcados nesta exposição rápida não cairam tão exatamente a 1 centena de metros, 2 centenas, 10 centenas, mas foram corrigidos pelos angulos de terra tomando: A — porta do meio do Frigorífico, — Montevidi, C — balisa do Morrião: exemplo, para 10 centenas de metros A — 94º20', B — (Montevidi, com Morrião — 52º40'; passam 2 Km: A — 49º50', B — 52º40', assim por diante, segundo a arte.

As *Ruppia* somente aparecem em sondagens abaixo de 1.2 m; fizemos várias dragagens, encontramos uma vasa ora mais escura, ora mais clara, às vezes negra. Mas o aspecto do fundo não era desolador e despovoado como o da Lagôa Rodrigo de Freitas (onde borbulhava o gaz sulfídrico quando sacudiamos a sonda; é esta lagôa entre o Ipa-

nema e Leblon um paraiso para os anaeróbios produtores de gás sulfídrico, e outros gases, e péssima para os animais bentônicos macroscópicos); Maricá teve e tem ainda até hoje, DEZ. 1954, o seu fundo com diatomáceas, vermes nematódeos, rotíferos, vivíssimos, de aspecto muito otimista em relação á Rodrigo de Freitas.

IMBASSAÍ

Vê-se no Imbassaí um barranco vermelho, com umas faixas amarelas, e muitas listras obliquas em declive de 45º, brancas, negras, entre elas uma massa meio violácea. Na zona da lagôa próxima a este barranco, vêm-se no fundo, olhando-se do bote, as mesmas listras coloridas, as aguas são claríssimas e transparentes (porque este fundo é firme, e o saco de S. José em frente é arenoso; as aguas não tem lama nestes locais). As aves imbiuá passam sempre por cima do local a procura dos peixinhos e camarões, muito visiveis no Imbassaí. Não há *Ruppia* enraizada, ha bodelhas de *Ruppia* acumuladas pelo vento, numa área de uns 4 hectares, carregadas em grande massa, ora para lá, ora para cá. Pouco acima da fóz do rio Imbassaí termina tudo isto, acaba a zona de argila colorida, entra-se em um gramado e pasto comum, rio acima.

BREJOS: DO CAPIM, E DO ITAIPUASSÚ

Largando a fóz do Canal de S. Bento, emproando no rumo sudeste, bussola nos 140º verdadeiros, navegando-se 2700 metros, vamos atracar na "praia do Capim", numa estação topográfica em que se vê a ponta do Imbassaí de 340º a 350º norte, a ponta do Inglês a 17º norte, foi a estação 80, fig. 5 (perfil e mapa). Saltando na praia, o aspecto é o mesmo — marginalmente as RUPPIA, os inumeros carangueijos catanhens, cujo nivelamento mostra habitarem uns monticulos na quota de 0 do nivel da agua da lagôa, até 10 centimetros mais alto. Na cota de 20 a 30 centimetros acima das aguas é que começa o gramado comum, com alguma *graminae* e entre elas a *Sectaria* sp.

Nestes locais vêm-se fios compridos de embira oxipéctala, tendo uns 5 a 10 milimetros de diâmetro, com uma folha muito triangular, chegando às vezes atá à cota de 80 centimetros acima do nivel da lagôa (em 19 ABRIL 1953, lagôa aproximadamente a 30 a 35 cm acima do nivel médio do mar.) Daí segue um declive que vai dar em um brejo.

A vegetação encontrada foi: entre as leguminosas, um fedegoso, arbusto de flôres de pétalas amarelas, *Cassia occidentalis*, e mimosas, muito parecidas com o maricá, *Mimosa* sp.; uns arbustos da familia *Apocynaceae* de folhas de 1 polegada de longo, e a embira com con-

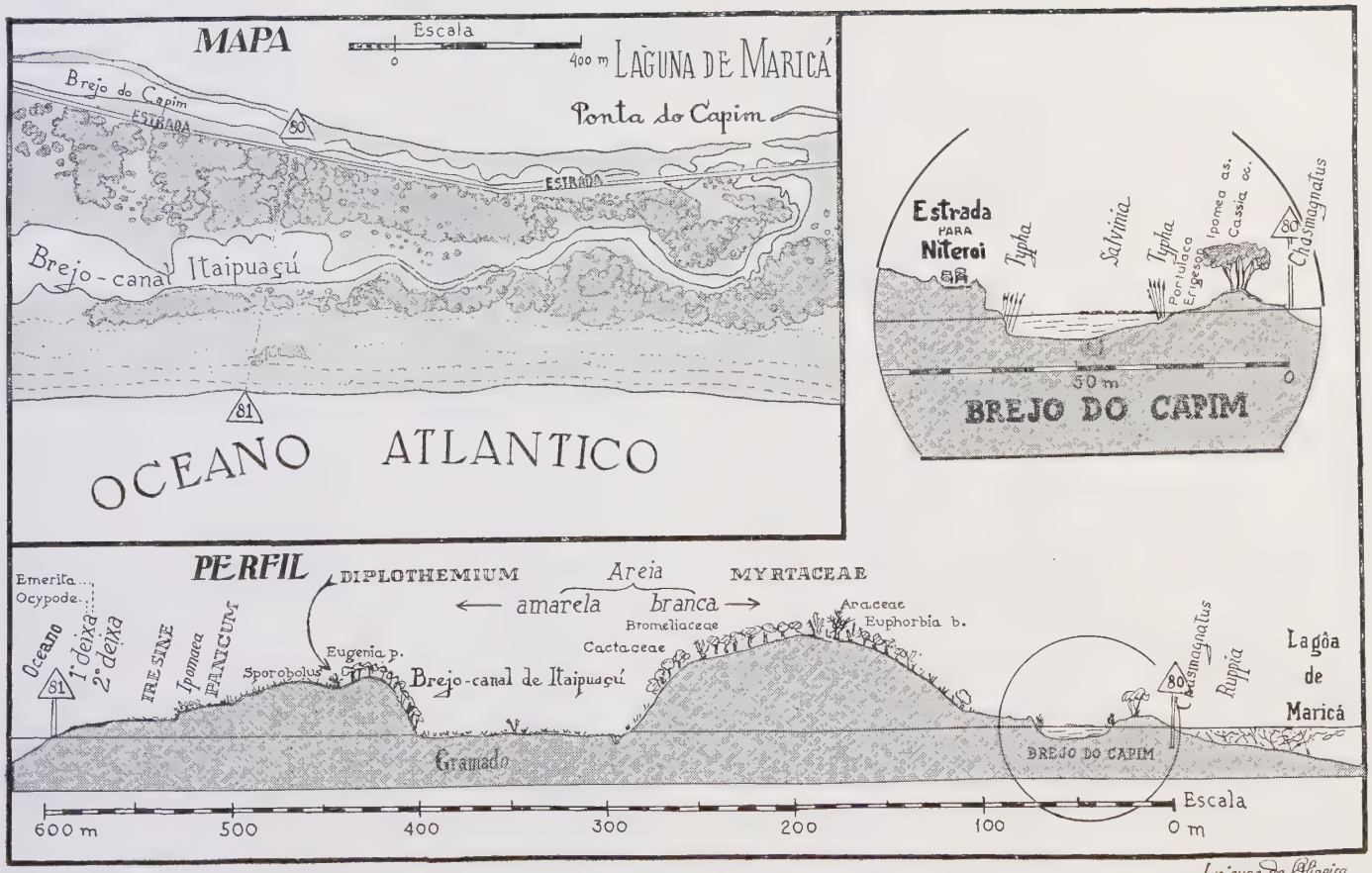

MAPA
Escala
0
400 m
LAGUNA DE MARICÁ
Brejo do Capim
ESTRADA
Ponta do Capim
Brejo-canal Itaipuaçú
81
OCEANO ATLANTICO
Estrada PARA Niterói
Typha
Salvinia
Typha
Pontederia
Eriocaulon
Ipomea as.
Cassia sc.
Chrysomagnatus
30 m
BREJO DO CAPIM
PERFIL
Emerita
Ocypode
Oceano
1ª deixa
2ª deixa
IRESINE
Ipomaea
PANICUM
Sporobolus
Eugenia p.
DIPLOTHEMIUM
Areia
amarela
branca
MYRTACEAE
Bromeliaceae
Cactaceae
Araceae
Euphorbia b.
Brejo-canal de Itaipuaçú
Gramado
Chrysomagnatus
Ruppia
Lagôa de Maricá
BREJO DO CAPIM
Escala
600 m
500
400
300
200
100
0 m
Lejeune de Oliveira

Fig. 5

dutos laticiferos que falamos, que é um *Oxypetalum* sp. (familia *Asclepiadaceae*), a convolvulácea *Ipomea asarifolia*, as labiadas *Hyptis* sp., e as compostas *Erigeron montividensis* (fig. 5). Segue-se o outro lado o brejo tendo nas margens um gramado, uma zona de *Portulaca* sendo uma variedade de florezinhas azuis, e beirando o brejo uma zona negra de plantas em decomposição; umas tabuas *Typha dominguensis;* e flutuantes, as *Salvinia* num tapete formando uma faixa de seus 20 metros de largura. As aguas são negras e quasi doces, neutras ou ligeiramente ácidas. Este brejo, nos tempos antigos tinha influencia no regime da lagôa.

Para os efeitos desta publicação chamamos de "Brejo-Canal" de Itaipuassú, tinha antigamente comunicação com o mar, levava agua salgada para dentro da lagôa. Este brejo tem a forma geográfica muito caracteristica — na face defronte a lagôa é todo formado de semicirculos, nas margens do lado sul, que é o lado do mar, é reto como pode-se ver no mapa fig. 5.

Depois da estrada segue a primeira elevação com os arbustos e vegetação caracteristica das restingas arenosas, tendo grande quantidade de cactáceas e bromeliáceas, alguns balsamos; o primeiro morro de areia é de areia amarela, até ao Brejo do Itaipuassú, que hoje é um gramado muito plano, seco, com uns 100 metros de largura e uns 3 quilometros de comprimento. De vez em quando um outro cacto e uma ou outra bromelia já tentam invadir este terreno, que ha 2 anos foi posto a seco. Passado este vale, entramos em outra duna de areia muito branca, com as aráceas, as pitangueiras, e umas palmeirinhas de restinga. Bem junto ao mar, a areia torna-se côr de camelo, havendo muita *Ipomea* da praia; junto ao mar os crustáceos: os tatuís *Emerita* e os carangueijos "Maria da Toca" ou "Maria Farinha" *Ocypode albicans*.

VEGETAÇÃO DE RESTINGA. — A praia marítima de Maricá é aberta, exposta á ação das vagas, é de areia pura, tem arrebentação muitissimo violenta, talvez muito mais forte que a de Copacabana e Ipanema. A zona de arrebentação, como sempre acontece, é desprovida de vegetação: é onde existem vários isópodos, anelídeos, muitas conchas vivas de *Donax hanleyanus*, ha o tatuí *Emerita emerita* que se enterra na areia, colocando os apêndices de fora á espera dos alimentos que vem nas ondas, cada vez que vão e vem. Ha alguns anfípodos nesta zona: *Talorchestia* sp. e outros em determinação. Esta região é a zona de praia sempre úmida. Na parte que as vezes fica a seco, onde ha uma primeira linha do deixa, ha numerosas conchas de moluscos vazias, havendo algum *Pecten, Dosinia, Cardium, Mytilus, Pectunculus* e outras, e as vezes cascas dos siris *Arenaeus cribarius*. Nesta região ha sempre aves marítimas comendo detritos, e insetos dípteros tambem.

Na parte pouco mais alta encontramos o carangueijo "mariafarinha" da familia *Grapsidae,* o *Ocypode albicans* (o mesmo que existe em Copacabana e Ipanema) e que faz um buraco profundo na areia. Depois da última linha do deixa começa a aparecer a vegetação que segue o modelo das associações já descritas em 1947, por Dansereau, agrônomo, canadense, professor de ecologia, que esteve entre nós, nas restingas do Rio de Janeiro. A primeira associação que chega as vezes a ter contacto com a agua do mar é o *Iresinetum portulacoides,* quase em formação pura, raro tendo mistura com algum *Paspalum* e *Panicum;* encontram-se amarantáceas *Alternanthera;* seguem-se *Panicum reptans,* os *Stenotaphrum,* ha as *Ipomea littoralis* as ciperáçeas *Remirea,* as *Scaevola, Polygala, Euphorbia* etc. Ha muito picão da praia *Acicarpha spatulata.* Olhando-se á primeira vista, levando só em conta o aspecto fisionômico, sem se fazer as contagens nem levantamentos estatísticos (os "transects", índices de abundância, índices de cobertura, de freqüencia, etc....) dos ecologistas — parece-nos muito analloga ás zonas de vegetação de praia, levantadas pelo Eng.º Agrônomo Dr. Alceo Magnanini, em Sernambetiba; acabam estas onde começam as "palmeiras-anão" ou " guirirís" — *Diplothemium maritimum,* em cujo local nunca mais atinge a agua do mar. Corre de quando em quando nesta região um pequeno r;ptil — o *Liolemus lutzae.* Em seguida começam as dunas de areia, cujo coroamento vai até a uma altitude de 9 metros, e a vegetação existente são uns bosques de dunas — numerosas pitangueiras, aráceas, cactáceas, bromeliáceas, arvores e arvoretas, que, na parte que dá para dentro da lagôa, junto ao Saco de S. José e perto do Canal de S. Bento, seja talvez uma restinga do tipo "Restinga — Myrtacea" (segundo Berta Lutz: Apontamentos do Herbário de Museu Nacional; com predominância dos gêneros *Myrcia* e *Eugeniae*). Ha um aspecto muito diverso na restinga de Ponta Negra, protegida em parte pela Serra Negra, que tem várias cintas pequenas de pitangueiras, e mais para dentro as enormes formações de "dedo de moça". Entre ponta Negra e S. José ha outras formações com muita *Clusia.* De qualquer tipo que seja a restinga, ela termina no lado de dentro da lagôa por dois modos — ou por uns brejos cercados de *Typha dominguensis,* a tabúa, com as aguas doces, paradas, com as plantas aquáticas *Salvinia, Nymphea, Azolla, Lemma,* ou então termina onde começa uma zona de beira da lagôa de vegetação rasteira, de um palmo de altura, com várias gramíneas, ciperáceas, muita *Acicarpha,* uns *Chenopodium, Mollugo* até junto d'agua com as *Ruppia.* Esta zona está assim por dois motivos — 1.º) porque é uma zona nova, pois a lagôa se enchia até 1.2 m acima do nivel atual (DEZ. 1954), ela foi abaixada, e deixou este espraiado que foi invadido por gramíneas e ciperáceas, desde 8 de Maio de 1951, até hoje. Outras plantas não puderam tomar conta, pela umidade do terreno, com agua salgada a 8 por mil de salinidade; nem a altura da grama vai além de um

palmo, porque alí é onde pastam os cabritos, carneiros, cavalos e bois que permanentemente comem o que vai nascendo.

Não pretendemos, nem vamos fazer ecologia vegetal; mas damos rápidas informações úteis ao hidrobiologista. Infelizmente para os naturalistas, as máquinas das companhias de loteamento arrazaram totalmente muitas destas restingas como as que estão ao sul das lagunas do Bacopari, Padre e Barra. As arvores e arvoretas foram cortadas a machado, o resto foi queimado, destocado, houve arruamento, espalhada a terra vermelha com espalhadeiras, e passado o rolo compressôr, para formar os bairros de veraneio. Algumas restingas como as do Cordeirinho, Zacarias, Ponta Negra, Guaratiba ainda estão naturais e intactas. Não ha razão para fazer muita ecologia junto ás enormes máquinas de movimentar terra: tratores, escavadeiras, niveladores que não deixam mais nenhum pé de mangue de restinga, dedo de moça, cajú, aroeira de cheiro, cactácea, amendoeira, bacurí, bacuparí, pitanga, pitangão, maricá, orquídeas, carrapateiras, clusias, canavalias, etc.... Alguma coisa aproveitam em lenha. Desaparece totalmente a vegetação de restinga, aparecem as ruas de terra vermelha no meio da areia branquissima, e já dezenas de casas de veraneio, com garages onde rebrilham lindos Cadillacs que vem cada um com 3 ou 4 caniços envernisadissimos de lado do automovel, para pesca de esporte, de fim de semana, em lanchinhas a motor esmaltadas, niqueladas, e impecavelmente coloridas. São os aristocráticos bairros que estão se formando, o que marca uma nova éra de progresso e urbanismo nesta região, outrora devastada pela malária.

Vêm-se por vezes entre as dunas, em lugares como pequenos vales, com muitos poços de agua doce, cavados artificialmente, ou nascentes naturais; essas últimas tendo ao redór uma grama forrageira, e pastando e bebendo uns pequenos rebanhos de uma a meia duzia de carneiros e cabritos, as vezes uns cavalos.

Os pescadores fizeram num local chamado "Cacimbas" vários poços de agua doce, atraz do morro do Zacarias, que é arqueano, mas tendo um barranco com terra vermelha com listras brancas, pretas, violetas, amarelas, e um solo meio argiloso, mais impermeavel. Estas cacimbas com agua doce, as vezes muito ligeiramente infiltradas de agua do mar, entre duas massas enormes de aguas diferentes: a do oceano, e a salobra (fig. 5). No povoado debaixo da vegetação da restinga o ar é mais fresco, toleravel, parece um oasis no meio das areias ardentes, chegando as vezes ao meio dia a 50ºC, impossiveis de serem pizadas quando vamos descalços. Mostramos na tabela 7 os resultados das análises das aguas colhidas em uma destas cacimbas razas; note como a agua oceânica á alcalina e a agua quasi doce é ácida. As fotografias da figura 15 mostram como facil é faze-las, até as crianças escavam-nas: alí mesmo, dando 2 palmos abaixo do chão, já se tem a agua potavel.

TABELA 7

Água de cacimba; Zacarias

REUSLTADOS FÍSICOS	
Côr da água mg. L. de Pt	0 0
Resultados químicos:	
Clorinidade em Cl. g./L. (oceanográfica)	0 015
Salinidade em g/L. (oceanográfica)	0 09
Partes % de água do mar em água doce (oceanográfica)	0 26%
Sais inorgânicos dissolvidos	
1 Compostos nitrogenados:	
Nitratos mg./L de N	0 0406
Nitritos mg./L. de N	0 0
Amônea mg/l de N	0 0
2 Fosfatos (orto) mg. L	0 0
3 Cálcio mg./L	0 8
4 Magnésio mg./L	4 32
5 Sulfatos mg./L (SO^4)	14 76
6 Sílica mg./L (SiO^2)	3 0
Matéria orgânica dissolvida:	
Oxigênio consumido em meio ácido, em mg. L	2 0
Dureza total equivalente a $CaCO^3$	20 0
Dureza cálcica equivalente a $CaCO^3$	2 0
Dureza magnésica equivalente a $CaCO^3$	18 0
pH	5 3

LAGUNA DA BARRA

As aguas próximas das margens são baixas, com pouca profundidade, até cerca de um palmo, para o centro a profundidade aumenta, até 1.5 m.; sendo a 200 metros fora da Ponta do Rato 1.80 m de fundura e bem no meio: 2.8 m.

Descrevemos agora o aspecto moderno desta laguna. Em 29 de Março de 1953, depois de dois dias de chuva, a agua da laguna de Maricá estava côr verde bronzeada, CUC 217, e de densidade cerca de 1.001; tomando-se o bote, e navegando-se até Boqueirão, mantinha-se a côr canela, mas até CUC 315, indo até Bacoparí. O plancton tinha muitas diatomáceas, entre elas as *Nitzschia, Bacillaria, Pleurosigma, Navicula* e outras. Na Ponta dos Cavalos já a côr passara a bistre, de repente ao virar a ponta, e entrar na Laguna da Barra, as aguas tornaram-se espetacularmente verdes, verdissimas, côr de maçãs não maduras, CUC 266, até côr de azeitona, CUC 326. A densidade que era em Bacoparí 1.005, passou aquí a 1.001. Víam-se estrias consti-

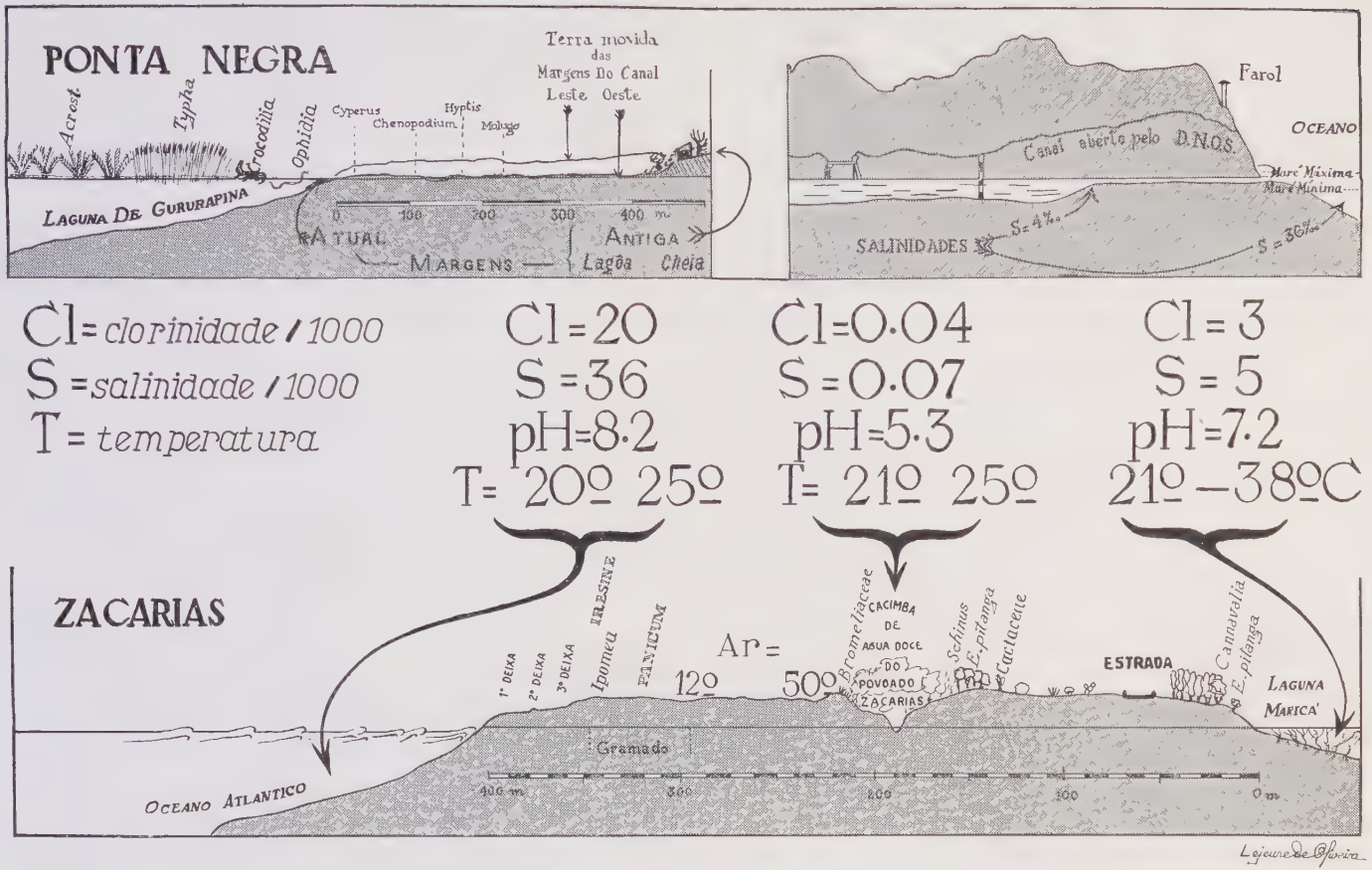

PONTA NEGRA
Terra movida das Margens Do Canal
Leste Oeste
Acrest.
Typha
Procadilia
Ophidia
Cyperus
Chenopodium
Hyptis
Moluga
Farol
OCEANO
Canal aberto pelo D.N.O.S.
Maré Máxima
Maré Mínima
LAGUNA DE GURURAPINA
0 100 200 300 400 m
ATUAL
MARGENS
ANTIGA
Lagôa Cheia
SALINIDADES
S=4‰
S=36‰
Cl= clorinidade / 1000
S = salinidade / 1000
T = temperatura
Cl=20
S=36
pH=8.2
T= 20º 25º
Cl=0.04
S=0.07
pH=5.3
T= 21º 25º
Cl=3
S=5
pH=7.2
21º – 38ºC
ZACARIAS
1ª DEIXA
2ª DEIXA
3ª DEIXA
Ipomeli
IRESINE
PANICUM
Ar=
12º
50º
Bromeliaceae
CACIMBA DE AGUA DOCE DO POVOADO ZACARIAS
Schinus
E. pitanga
Cactaceae
ESTRADA
Cannavalia
E. pitanga
LAGUNA MARICA'
Gramado
OCEANO ATLANTICO
400 m
300
200
100
0 m
Lejeune de Oliveira

Fig. 6

tuidas por grãos verdes vizíveis a olho nú, do tamanho dos grãos de farinha de mandioca; cada um dos grãos, examinado ao microscópio, era constituido por numerosas cadeias, enroladas em espirais, das algas *ANABAENA SPIROIDES;* era ocasião de uma "floração" desta alga; o plancton estava monótono, quase sómente esta espécie presente; o verde era tão carregado que parecia tinta de pintar paredes, as aguas grossas e viscosas. Noutros locais da lagôa a densidade era 1.005; a temperatura era ao meio-dia, a 2.40 de fundo: 21º C.

Saindo do Boqueirão, indo para o Saco das Flores, ao norte, tem-se a Ilha de João Antunes á leste; entre Boqueirão e João Antunes o máximo de profundidade foi 2 metros; de 50 em 50 metros atravessando E-W encontramos as sondagens: 1.2 m; 1.7 m; 1.8 m; 1.8 m; 1.9 m; 2.0 m; 2.0 m; 1.8 m; 1.5 m; 1.2 m; 0,5 m. Em 1949, no antigo regime, quando visitamos João Antunes havia: na margem junto á lagôa — um gramado, um barranco com a vegetação comum da baixada fluminense. Na agua da beira de praia os flocos de "lixo algodão verde" como uma cabeleira mais grossa, não igual á Ulothricacea da Laguna de Maricá, embora da mesma familia, contudo era mais grossa, e junto dela a *Enteromorpha* "o lixo do camarão" — alga verde de tubinho, feito um macarrão fino, conforme conhecem os pescadores, que era onde o camarão meudo, jovem, se criava, alguma *Ruppia* de vez em quando, e o amphipoda *Melita lagunae* junto aos "lixos". Muitas centenas de "caramujinho arroz" — *Lymnaea* sp. e varios *Solen,* a "Unha de Velho" estavam vivas de 1949 até 1950. Nas pedras as caracas *Balanus amphitrite* vivas. Lá no fundo do Saco das Flores os fetos *Acrosthicum,* de vez em quando umas pedras cagarras por aves, e nas pedras ossadas de peixes e restos de carangueijos comidos pelas aves. Em locais rasos, de vez em quando, uma *Characea*: *Chara* sp. Estas comunidades ficavam exuberantes 1 a 4 mezes depois de aberta a lagôa na Barra da Emergencia, com aguas polihalinas. Era o aspecto da Bacuparí e da lagôa da Barra quando recem-salgadas: com *Enteromorpha, Balanus, Penaeus,* com siris *Callinectes sapidus,* etc.

LAGUNA DO PADRE

A Laguna do Padre, no tempo antigo subia mais cerca de 1.2 m do que está hoje. Os espraiados agora são maiores. Parece mesmo que seu regime quasi nada mudou, pois nem antigamente e nem hoje não sofreu muito a influencia do mar, as barras na Emergencia e na Ponta Negra são de pouca influencia para esta laguna. A *Ruppia* toma conta de tal forma das aguas que não se podia antigamente, e nem se pode hoje, passar com um bote a motor — estas najadaceas enroscam-se na hélice. Grande parte tem a profundidade de 30 a 40 centimetros: o gas sulfídrico difunde em larga escala quando o remo toca o fundo. Os jacarés vão até aos de 10 kilos, se escondem de dia no tabual e nos fetos, só saem á noitinha. A turvação das aguas é enorme,

não se vê o fundo de 30 centimetros. O teor de sílica é 10 vezes maior que o do oceano: (tabela 6, resultado n.º 1). Hoje esta lagôa tem muitos acarás, bagres, robalos e outros peixes de agua quase doce.

Entre os vegetais marginais encontram-se monocotiledoneos — Pandanales — Typhaceae: *Typha dominguensis;* Glumiflorae — Cyperaceae: umas tiriricas de lagôa do genero *Cyperus* e um jaçapé do genero *Kyllingia*; Gramineae: *Saccharum officinarum* a cana de açúcar em plantações nas margens do interior; Spathiflorae, Araceae: varias espécies, e alguns imbés; Farinosae — Bromeliaceae, várias *Tyllandria* sp. epifitas, e *Bromelia* sp.; Commelinaceae: *Chorisandra* sp.; Scitaminae: Musaceae — *Musa paradisiaca,* muitas bananeiras plantadas do lado interior. Dicotyledonae — Centrospermae: Portulacaceae — *Portulaca grandifolia,* as "12 horas"; Myrtiflorae — umas ervas campestres da familia Oenothearaceae; Umbelliflorae, a umbelifera *Hydrocotyle leucocephala* uma "erva capitão"; Gentianaceae: o *Limnanthemum humboldtianum* a soldanela; Tubiflorae: várias *Borraginaceae,* e a solanácea *Brunfelsia maritima; Arrabidea conjugata* e *Lundia cordata;* várias Rubiales, entre elas uma poaia rasteira: *Borreria verticilata* (Rubiaceae); Campanulatae — uma erva de rosetar *Acicarpha spatulata,* e entre as Compositae — muitos carrapichos, ervas pequenas da beira da lagôa, a *Huchaea quitex.*

O CANAL DE GURURAPINA EM PONTA NEGRA

O canal escavado pelo Departamento Nacional de Obras e Saneamento preencheu 100% as finalidades para as quais foi construido, isto é, não deixar a lagôa se inundar com as chuvas, e acabar com os focos de mosquitos, principalmente os da malária, enfim, sanear a região.

O Engenheiro Dr. Saturnino Braga fez o projeto deste canal da Lagôa, e tomou como exemplo a Barra do Vidigal, junto á Avenida Niemeyr, construida por Saturnino de Brito, que nunca mais fechou-se com areias, enquanto que o canal da Lagôa Rodrigo de Freitas, sempre se fechava e ainda fecha, por ser barra aberta em litoral arenoso. Fez tambem estudos e cálculos comparando Maricá com Santo Antonio del Chile, estudado por Jeorge Lyra e concluiu que não ha receios de assoreamentos no interior, porque Maricá tem muita analogia com Santo Antonio. Fixou o canal em Ponta Negra, o que era racional e econômico. O canal foi executado em — 1.º/ uma zona de areias; 2.º/ um brejal; 3.º/ corte na pedra; 4.º/ evitando atravessar as dunas, cujo coroamento achava-se a 9 metros de altitude. Seguiu as técnicas preconisadas pelo Congresso de Navegação de Bruxellas, fixou por isto o talude em 1:3, e como aconselhavam os americanos e holandezes fez — a/ cortina de pranchas defendendo o talude; b/ revestimento de pedra; c/ plantio de grama na cota de mais de 2.5 metros; Os caracteres do canal são (Tabela 8)

TABELA 8

Comprimento	1 500 m
Coeficiente a	1.11
Coeficiente de Bazin	0 85
Base menor	b: 12 m
Descarga	Q = 45 m3 por segundo

Em frente ao canal foi projetado um molhe de pedras, que entrava pelo oceano a fora, de modo, que seguindo como fizeram os holandêses nunca o canal em Ponta Negra poderia vir a ser fechado por areias. A escavação do Canal foi feita até ao Zero Hidrográfico. Notemos que o molhe de pedras não foi construido, mas o projeto acha-se nas Memorias n.º 62. 1947, Arquiv. Techn. D. N. O. S. (Ministerio da Viação).

O canal de Gururapina — Ponta Negra, foi executado, tem forma de S, com 1500 metros de comprimento; uma porção reta de cerca de 500 metros de comprimento e 30 m de largura foi dragada dentro da propria laguna. Depois segue uma porção curva de convexidade para o mar, depois segue paralelamente á praia maritima até dar em um estreitamento com cerca de 30 metros de comprimento, com 4 metros de largura onde está a ponte da estrada Ponta Negra-Nilo Peçanha. Daí segue uma curva de concavidade para o mar, todo este trecho em terra mole, trabalhavel com *drag-lines,* tem cerca de 1 quilômetro. Segue o trecho em rocha granítica, com cerca de 200 a 250 metros até ao mar, que foi dinamitado até ao Zero Hidrográfico.

NOVO REGIME DA LAGÔA DE MARICÁ

Segundo o Eng.º Dr. Saturnino Braga, o calculo dos volumes descarregados pelo novo canal aberto em Ponta Negra, em 24 horas são os seguintes, sendo que a maré estava na cota de 2.0 m nas 9 horas e 42 minutos, e a 0.8 m as 3 horas e 48 minutos.

TABELA 9

COTA DA LAGOA	Descarga em m3 por segundo
1.2 m	258 700
1.4 m	469 4000
1.6 m	773 000
1.8 m	1 340 000
1.0 m	1 573 000
2.2 m	2 754 000
2.4 m	3 505 000

Isto quer dizer, sob o ponto de vista do hidrobiologista, que se a lagôa estiver no nivel de 1.2 acima do Zero Hidrográfico vazará 259 700 m³ em 24 horas pelo canal de Ponta Negra, e se a chuva for violenta e ela subir mais 1 metro e 20 acima do seu nivel normal, isto é, se estiver na cota de 2.4 m acima do Zero Hidrográfico, ela vazará 3 505 000 m³ de agua pelo canal, e a passagem desta agua será na proporção de 45 m³ por segundo. Ora, se acaso esta agua não vazasse pelo canal (como era no regime antigo) eram os 3 505 000 m³ que iam diluir as aguas baixando a salinidade.

No novo regime, segundo Saturnino Braga, as aguas que entram na maré enchente e as que saem por Ponta Negra são as seguintes sendo que o "Nivel médio da Lagôa" acha-se a 1.5 m acima do Zero Hidrográfico (Tabela 10).

TABELA 10

MARÉ (Cota hidrográfica)	Volumes que saem para o mar	Volumes de água salgada que entram do mar, para a lagoa
	(m3)	(m3)
2.0 m	159 000	...
1.9 m	190 000	...
1 7 mm	206 000	...
1.6 m	75 600	..
1 5 nível médio da lagoa	...	.
1.4 m	..	7 200
1.3	...	99 000
1.1 m	...	117 000
1.0 m	...	164 000
0.8 m	. .	178 000
TOTAL	630 000	630 000

Saturnino de Braga pôde verificar que na chuva fortíssima de 10 de fevereiro, com uma precipitação de 67,2 mm, o nivel da Lagôa chegou apenas até 1.73 m, e que, nas peiores condições imaginaveis a lagôa apenas chegaria a 1.90 m, tendo como mais chuvoso o mês de Janeiro.

O quadro do regime da lagôa, foi feito pelos maregramas que puderam ser obtidos no local mais próximo, isto é, em S. João da Barra, onde havia marégrafo instalado. Neste quadro, do Dr. Saturnino de Braga, apresentamos, com simplificações, na nossa figura n.º 6-A, dando apenas o que é de interesse para o hidrobiologista.

Então,, uma chuva de 3 mm na área da lagôa traz aproximadamente 10 milhões de litros de agua, esta sobe de nivel 0.3 m. e, para esvaziar a lagôa, se ela estiver na cota de 1.5 m, esta passará para 1.8 m, as aguas saem pelo canal de Ponta Negra, segundo as curvas do gráfico da fig. 6A, de Saturnino de Braga.

Explicação da figura 6A

Regime de Marica, segundo Saturnino Braga. (simplificado) Pode-se ver que o metodo racional foi adotado:

A discarga Q foi achada por

$$Q = \frac{r\ s\ h}{3600}$$

Sendo S a superficie da bacia hidráulica. 230 Km^2 h = intensidade maxima de precipitação das chuvas por hora, (por exemplo h = 3 mm) r = run-off (aqui em Maricá, 0.6) assim por exemplo, as chuvas de mm dão

$$Q = \frac{0.6 \times 230 \times 16^6 \times 0.003}{3600} = 115$$

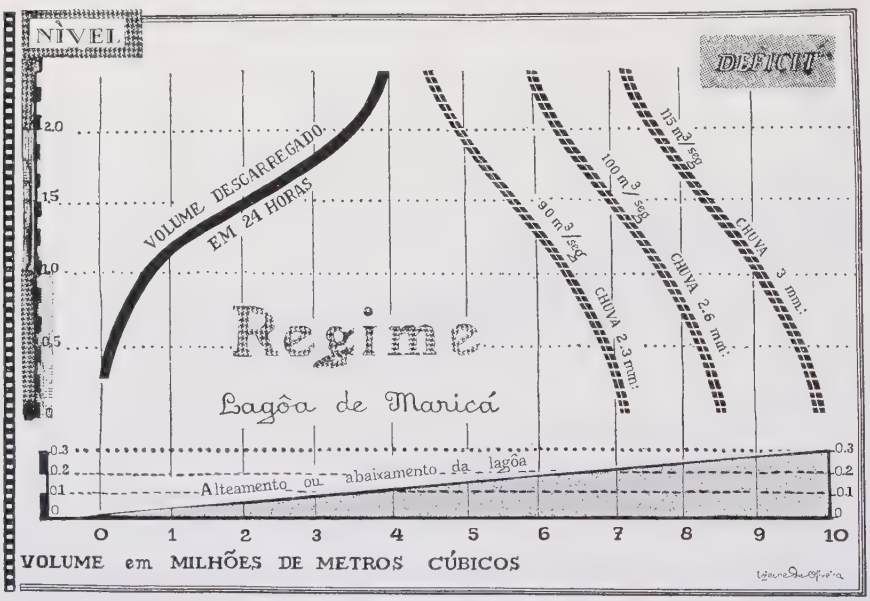


Fig. 6-A

RENOVAMENTO DE AGUA DO MAR. — tem muita importância para o hidrobiologista o renovamento de agua do mar, este então se dá na quantidade de 630 000 m^3 de aguas da lagôa que saem, e de 630 000 m^3 de aguas novas do mar, que entram. Vejamos como ficará a lagôa sob o ponto de vista de regime de salinidade. Tomemos o

numero 40 Km^2 (usado para calculo, pelo Eng.º Dr. Saturnino Braga). Então a lagôa terá 40 000 000 m^3, suponhamos em 1953, com 8 por mil da salinidade; saem 630 000 m^3 de agua a S 8 por mil e entram 630 000 m^3 de agua a salinidade de S = 37 por mil, tal mistura, dará uma concentração correspondente a 1 63, em outras palavras havia 320 000 toneladas de sal marinho na lagôa, o volume de agua do mar que entrou trouxe mais 23 000 toneladas de sais, a lagôa passa então a ter 320 000 + 23 000 =343 000 toneladas, o que dará salinidade, S = 8.6 por mil, aumentando 0.6 por mil na salinidade. Vejamos diariamente, qual seria o aumento de salinidade, durante o mês.

DADOS DE CALCULO:

Seja, por hipótese, a lagôa com salinidade a 8 por mil, recebendo uma renovação diária de 630 000 m^3 de agua do mar a 37 por mil de salinidade, e por hipotese, um mês de Maio. (Tabela 11)

TABELA 11

Maio	dia 1	salinidade	8 0
	4	»	8 6
	10	»	13 1
	20	»	19 2
	30	»	24 6
Junho,	dia 1	»	25
	10	»	30 4.
	20	»	36 8
	21	»	37 por mil

Então vemos, que se o canal funcionar com a vazão com que foi projetado, no fim de 1 mez e 20 dias deverá dar a lagôa a salinidade de 37 por mil. Mas isto não acontece assim cem por cento; porque ha descargas dos rios que não deixam a salinidade aumentar nesta proporção. Se levarmos em conta a agua doce das chuvas e dos rios, veremos que uma certa parte da salgadura que vem de Ponta Negra é desfeita por diluição, mas mesmo assim este não poderá quebrar o regime hidrobiológico, pois entre 34 e 37 por mil de salinidade ainda se está no "regime euhalino", segundo os conceitos modernos de Hedgpeth 1953, o que manterá equilibrio biológico, sem mortandades.

Calculando o efeito das chuvas teremos:

Maio salinidade ..... 8 por mil,
1 junho salinidade ..... 25 por mil, e com chuvas: 23 por mil.
21 " " ..... 37 por mil, e com chuvas: 34 por mil.

Haverá uma pequena quebra na salinidade, de 3 por mil, o que sob o ponto de vista hidrobiológico não alterará regime.

Por este projeto, não só teremos a lagôa ótima sob o ponto de vista de saneamento, como sob o ponto de vista de regime hidrobiológico. Se o canal em Ponta Negra funcionar de acordo com estes dados de cálculo, proceder-se-á uma mudança benéfica sob o ponto de vista do pescado, pois a entrada de 630 000 m³ de agua do mar diariamente dará tambem o plancton suficiente para a alimentação dos camarões e peixes.

ATUAL NIVEL DA LAGÔA

As variações de nivel da lagôa, atualmente, em um curto período de chuvas fortes, segundo os dados do Eng.º Dr. Saturnino Braga, Mem. 62; Arquiv. Tecn. D. N. O. S.) são os seguintes, tirando de seus gráficos da prancha n.º 6 apenas os dados úteis ao biologista:

— "não havendo chuvas, a atual lagôa mantem-se no seu nivel médio, isto é, na cota de 1.5 m acima do Zero Hidrográfico; após o primeiro dia de chuvas fortes, suas aguas somente sobem de 20 centimetros (cota 1.7 m), no 2.º dia de chuvas ainda permanece neste nivel, no 3.º dia alcançando a cota 1.86 m e permanecem nesta cota até ao 4.º dia chuvoso. Do 4.º até ao 8.º dia permanece neste ou em pouco menos que neste nivel, somente indo diminuir para chegar á cota de 1.80 m no 8.º dia de chuvas intensas.

Quer dizer que, chuvas muito intensas só conseguem elevar o nivel da lagôa nos 3 primeiros dias de 0.36 m, e acima deste nivel a lagôa não sobe, porque as aguas vazam pela Ponta Negra."

Resumindo: O nivel médio atual é 1.5 m, e o nivel máximo atual é 1.86 m após chuvas; a lagôa não desce abaixo de 1.5 m devido ao assoreamento no canal de Ponta Negra. Amplitude total atual (Janeiro 1955) das aguas: 0.36 m.

O CANAL DO CORDEIRINHO

Queixavam-se os pescadores da Laguna de Maricá esta não ser salgada, enquanto que a de Gururapina era; os peixes vindos do mar entravam na Gururapina, e o enorme *Typhetum* na região do Cordeirinho não permitia a agua do mar chegar até Maricá, que ficou, por assim dizer isolada. O Cordeirinho passou a agir como um imenso filtro, tendo apenas um palmo de altura e cerca de 2 quilometros quadrados, onde as *Typha, Acrosthicum, Gramineae, Cyperaceae, Ruppia* e numerosas plantas aquáticas intricavelmente emaranhadas formavam uma especie de peneira que retinham tudo o que vinha de Gururapina, e faziam obstáculo á circulação de aguas.

Nesta ocasião houve rivalidade entre os pescadores de Maricá e de Gururapina; só entrava peixe em Gururapina, sendo que estes últimos pescadores tiveram licença de pescar no mar, durante as obras do Canal, e quando o canal ficou pronto eles tinham duas fontes de renda — o peixe do mar, e o da lagôa; alem disto, havia outra queixa — bastava um gururú-pirá ou guarapino colocar suas redes no canal para

colher o peixe que saia e entrava. Os de Maricá tiveram a pesca reduzida a zero, e tinham um enorme frigorífico que fabricava 5 toneladas de gelo diárias, mas sem uso, porque não havia peixes a congelar. O numero de ofícios contendo queixas a este respeito era muito grande, e foram dirigidos a várias repartições do Estado do Rio, e Federais, dos Ministerios da Agricultura, Marinha e Viação.

Foi então, que para remediar tal mal, foi resolvido fazer com que o mar chegasse até Maricá; entraram em estudos para execução o canal que ligasse as Lagunas do Padre e Guarapina atravez da região do Cordeirinho, e que tinha sido estudado e projetado em 1947 pelo engenheiro do Departamento de Obras, do M. Viação, Dr. L. Sampaio.

O Canal do Cordeirinho terá os seguintes caracteres (Tabela 12).

TABELA 12

Canal de seção trapezoidal, talude a 1:1, base menor	b = 80 00 metros
Altura	Hm = 1 7 m
Altura	Hj = 1 4 m
Base maior	B = 88 00 m
Declividade	I s = 0 000129
Declividade	Ii = 0 000 000
Descarga	Q = 71 05 m3 por segundo
Comprimento	2 300 metros

Este canal de 2 300 metros de comprimento, largura de 80 metros, cheio de agua e com profundidade de 2 metros, levará 255 780 metros cúbicos de agua por hora, vinda de Gururapina para Padre, e desta para Maricá, querendo isto dizer que, em 6 horas de maré enchente ele terá capacidade para a passagem de 1 500 000 de metros cúbicos, capacidade esta maior que a do canal de Ponta Negra; então os 630 000 metros cúbicos que entram em Ponta Negra terão livre curso á Laguna do Padre, e desta pelas lagunas de Barra, Bacoparí chegarão até Maricá, visto que a área da seção deste canal é de 190 metros quadrados. Com este canal funcionando então terão os engenheiros do Departamento Nacional de Obras resolvido os dois problemas: o do saneamento (já resolvido), e depois o de produtividade (em execução, já tendo as *drag-lines* cavado mais da metade deste canal do Cordeirinho, agora, em Dezembro de 1954.

Vê-se onde foi o antigo nivel das aguas de Gururapina na fotografia: n.º 3,4 e 5 da fig. 16, uma faixa preta turfosa. Um aspecto do canal, na sua parte rochosa, está exposto na fig. 17, o n.º 3 mostra as aguas na preamar e o numero 4 onde é, junto á rocha, o nivel do fundo.

Hoje as aguas que escoam para o mar são sempre pardacentas, côr de ferrugem e muito barrentas, sua composição química está nos

resultados n.º 3-6 da tabela 6. A figura 6 é um perfil materializando a entrada do canal: fora, próximo ao farol, no oceano, as aguas do mar com salinidade de 36 por mil, e a entrada rasa; os níveis de marés mínimas e máximas, depois a cerca de 200 metros da parte rochosa, as aguas já estão com salinidade de 4 por mil, na outra ponta dentro da extremidade do canal em Gururupina: o espraiado atual, o nivel antigo da lagôa, e a vegetação de fetos e tabuas. Nas margens da laguna ha muita agua doce infiltrada, mostramos, uma fotografia local apanhada de surpreza, uma cacimba raza (fig. 15) com 1 palmo de fundo, já em agua potavel. No canal encontram-se cadaveres dos animais marinhos que penetrando na lagôa morreram por hipotonia, ou por calor: são poucos, mas se encontram quasi sempre: uns cascos de vários *Portunidae* mortos: sirís, *Callinectes acutidens, C. danae* os sirís azuis; os moluscos que foram atirados na boca do canal, que são os mesmos como foi exposto por Oliveira, na Lagôa de Piratininga (Mem. I.O.Cruz, 1948), mexilhões, e vários mariscos. Só podem entrar no canal de Gururapina os representantes da fauna marítima com enormissima resistencia ás mudanças de salinidade, e os que habitam a camada a mais superficial, na preamar, como as savelhas *Brevoortia tyrannus* que existem em grande quantidade porque nenhum pescador as quer. Não entra mais nenhum camarão *Penaeus*. O aspecto da lagôa é oligohalino: os peixes robalos crecem bem — *Percidae, Oxylabrax undecimalis;* vários bagres; umas tainhas de lagôa *Mugilidae;* muitos acarás: *Geophagus* sp; muitos mama-reis: *Menidia* sp. Estes animais eram na maioria habitantes das zonas de aguas mais doces do sistema Maricá, agora estão passando a predominar o seu numero cresce dia a dia.

As margens ressecadas, na parte sul, foram se cobrindo de plantas, entre as principais, encontram-se: Monocotyledonae — Glumiflorae —*Stenotaphrum* sp.; Centrospermae — *Chenopodium* sp.; Azoiaceae: *Molugo verticilata;* Parietales: Violaceae — uma espécie de poáia de beira de lagôa — *Hybanthus* sp.; Myrtiflorae — Oenotheraceae — uma espécie de *Jussieua,* a "cruz de malta" de pétalas amarelas; Contortae: Gentianaceae — *Limnanthemum humboldtianum,* a soldanela; Tubiflorae — várias Borraginaceae; Labiatae — o *Hyptis* sp. e várias Rubiáceae.

As margens interiores na parte de alluvium tem o *Acrosthicetum,* a zona das samambáias ou fetos da lagôa, com anfíbios, répteis: jacarés, lagartos, e ofídios: as cobras e serpentes; esta zona continua-se e as vezes mistura-se com um tabual — *Typhetum,* até as fozes dos rios, onde a vegetação aquática é de agua doce: *Eichornia, Azolla, Lemna.*

O aspecto das populações deste sistema de Maricá não está estacionário, está em plena evolução ecológica, está se formando um novo conjunto florístico e faunístico, do qual somente pudemos fazer estas observações iniciais; ora predomina o componente de agua salgada, em outra fase o componente de agua doce.

A QUESTÃO DO CAMARÃO

Logo que foi aberto o canal em Ponta Negra, em 1951, e até hoje, o camarão não mais entrou, e nem entra na lagôa, de modo algum. Ha a seguinte tradição oral entre os pescadores: " — o camarão não entra em barra de pedras, somente entra em barras de areia, cuja direção é a da obliquidade das ondas, na qual a areia vem se depositando." No caso de Maricá é sudoeste para nordeste, a direção onde estão as pedras na entrada do canal de Ponta Negra. O difícil é fazer com que entre exatamente a parte da veia líquida onde estão as larvas planctônicas do camarão.

Os engenheiros do Departamento Nacional de Obras disseram que atenderão a esta tradição popular, mandarão dinamitar as parte rochosas nesta direção. Se esta tradição futuramente fôr confirmada pela entrada do camarão, passará a ser um fenomeno real e verdadeiro na biologia do nosso camarão *Penaeus brasiliensis*, se depois da dinamitização não subir o camarão barra acima, então ha necessidade de fazer desacreditar tal lenda, ou falso mito. A experimentação deste fenomeno não trará despezas porque o preço da dinamitisação será compensado pela pedra retirada, que é materia prima de valôr e terá sua imediata utilização, segundo disseram-nos os técnicos do D.N.O.S.

Pois na lagôa antiga, durante a época de camarão, saiam 4 a 5 caminhões diariamente (até cerca de 30 toneladas), sendo que a maioria ia ser vendida no Entreposto de Pesca do Rio de Janeiro, e algum para Niterói, pequenas quantidades para Itaboraí, Rio Bonito, S. Gonçalo, além das pequenas quantidades que iam para uso local. Hoje, em Dezembro de 1954, vimos no armazem da praça de Maricá viajantes comprando camarão enlatado para o almoço! lá que era a terra do camarão!

CRISE ATUAL. — A falta de peixe em Maricá deu-se de 1951 para cá. Enquanto os pescadores do local esperam as melhorias que virão mais tarde, sofrem terriveis dificuldades com a completa falta de recursos para viverem. Alguns pescadores que ainda ousam pescar, passam a noite inteira na Lagôa, e só conseguem trazer na canôa alguns acarás e bagres, pequenos, que são arrematados de manhã em frente ao frigorífico, por qualquer Cr$ 40,00, ficando Cr$ 20,00 para cada um dos parceiros. Os que se animam a fazer tal pescaria são os velhos que não se adaptam mais a outras profissões, e assim mesmo, para viverem ainda recebem sustento dos filhos que lhes mandam dinheiro, e que mudaram a profissão: foram para a lavoura, ou mecânica, ou carpintaria, etc... A pesca deste acarás torna-se cada vez mais limitada, pois nem estes chegam a crescer direito: são produto somente da lagôa em regime oligohalino a 8 por mil de salinidade. Desaparecida a grande pesca, desapareceu tambem a vida de Maricá e o lucro da Prefeitura local. O Frigorífico lá está, e quando foi inaugurado em

1953, já não havia mais pescadores que tivessem uma rêde grande para dar um lanço de "Profissional...", já haviam vendido suas redes. Se não podem mais viver da pesca, o que vão continuar fazendo alí? Segundo as estimativas dos pescadores do local, dentro de 2 ou 3 anos (em 1957 ou 1958) estará totalmente reduzida a ZERO qualquer pesca nestas lagunas, se a situação hidrológica continuar a mesma. Hoje em Dezembro de 1954, não ha mais nem o canal de Ponta Negra: ha um enorme assoreamento que só deixa a agua da lagôa sair, e muitissimo raro, em marés altissimas de equinóxio e sizígia, entra um pouco de savelha ou de tainha.

O canal do Cordeirinho, que liga a lagôa do Padre á Gururapina, que começou a ser dragado, está paralizado, e vê-se hoje, junto dele a drag-line que fez metade do serviço, parada na parte oeste, quasi chegando na Laguna do Padre.

Além deste fato, outro que agravou a situação do pescador, foi o despejo feito em massa, dos terrenos onde moravam. Ha hoje, em 1954, na restinga de areia ainda vários povoados: Zacarias, Guaratiba, Ponta Negra, Emergencia, onde ha 500 familias de pescadores matriculados, e 300 familias de não matriculados. Agora, em Dezembro de 1954, estão sendo despejadas 60 familias, para que possam lotear o trecho de Zacarias, e possam fazer um bairro de veraneio (está sendo loteado a Cr$ 80.000,00 o lote, cerca de Cr$ 300,00 o metro quadrado). O fato é que em breve as 800 familias de pescadores não estarão mais nem em Maricá, e nem na pesca. Ha lutas: advogados como os Drs. O. Rodrigues, C. S. Junior, G. Pestanda, e o chefe da colonia de Pesca (hoje vereador) defendem os pescadores e esperam ainda, abertos os canais, e construido o molhe projetado em 1947, que a lagôa tendo comunicação com mar, terá peixe e camarão: não em 3 600 toneladas anuais, porque a lagôa perdeu superficie, mas ao menos como 2700 toneladas anuais. Os proprietários do terreno dizem que nunca mais haverá peixe, e requerem o despejo de pescadores. Hoje ja foram loteadas todas as restingas de Bacoparí, Barra, e Padre. As restingas junto ao canal de S. Bento, á S. José, já foram todas arrazadas, destocadas arruadas, loteadas, e já se fez o plantio de coqueiros, e palmeiras, para arborizar as avenidas e alamedas dos futuros bairros balneários. O Iate Club em início de funcionamento, talvez venha concorrer para as aguas ficarem muito impróprias ao peixe, que não dão formidavel criação onde haja películas de petróleo (motores de barcos, lanchas, de popa.)

Ha uma estação de tratamento de esgotos em execução, no norte de Maricá, em Araçatiba; esta lançará o produto tratado no norte da lagôa; se os esgotos forem bem tratados, não haverá nada de mal, mas no fim de algum tempo, como acontece sempre, é haver um certo relaxamento e lançarem mesmo as poluições in-natura nas aguas, aí teremos mais outro estrago, além do petróleo: a poluição. O que vislumbra surgir no futuro, se as coisas tomarem este rumo, é no fim de

alguns decênios haver outra "Rodrigo de Freitas" mas em escala maior — com os desequilíbrios, as poluições, as mortandades, e com ótimo urbanismo.

PROTEÇÃO Á NATUREZA AQUÁTICA

Agora vamos falar sob um outro aspecto, o ponto de vista de equilíbrio das águas biológicamente, os regimes hidrobiológicos das lagunas. Estes aspectos, nem no Brasil, e nem em qualquer parte do mundo, ainda não são tomados em consideração com muito rigor, porque ainda é raro o técnico em hidrobiologia, e onde eles existem, como na Europa, não são ouvidos quando os técnicos em hidráulica fazem as grandes mudanças nos regimes dos lagos e dos rios. Vejamos o que diz Thienemann, o chefe da Sociedade Internacional de Limnologia, falando da Alemanha: "— que tenha junto aos engenheiros das aguas um hidrobiologista, para que não transformem todos os produtivos rios da Alemanha em fossas, no seu trabalho pedindo a proteção da natureza: — "Rios, ou (digamos melhor: cloacas) da Alemanha". Até na África: ficamos espantados quando lemos o trabalho de Day pedindo a proteção para as aguas da Zululandia que eram ha pouco o paraizo dos camarões, peixes e hipopotamos! (The St. Lucia System, 1953).

Para manter a lagôa em regime polihalino, basta a renovação de 630 000 m³ de agua do mar diariamente, conforme foi projetado o canal de Ponta Negra. Atualmente não ha entrada de agua do mar, desde 1953 até Dez. 1954. As aguas junto á ponte sobre o Canal de Ponta Negra estão paradas desde 1953. Lembremos outra vez que, para a finalidade de saneamento para a qual foi feito o canal, este aspecto é ótimo, pois as aguas das chuvas escorrem para o oceano, mantendo a lagôa em nivel constante e de margens secas. Mas sob o ponto de vista da natureza aquática, da lagôa ser mais produtiva, e voltar a ser o gigantesco viveiro de camarões e peixes, ainda necessitaria fazer com que as obras de engenharia projetadas funcionassem para este fim hidrobiológico: entrar camarões, peixe e plancton.

Ha uma regra quasi infalivel em limnologia: — "quando foi quebrado um regime hidrobiológico secular, de um lago ou lagôa, absolutamente, absolutamente nunca, a massa d'agua voltará a ser o que era anteriormente. Ou levará dezenas de anos refazendo-se, ou para melhor ou para pior, mas nunca totalmente igual ao que foi no ciclo anterior." Sabemos que as comunidades ecológicas, as séras, com suas associações, suas zonações, não se formam de um dia para o outro. Se a lagôa perder as associações, que ainda tem, dos seus "lixos-de-camarão" com *Potamogenaceas, Ulothricaceas*, algas *Enteromorpha* que tem no seu emaranhado o conjunto de copépodos, ostrádodos, anfípodos, insetos, e uma série de animaizinhos que o camarão e os peixes comiam antigamente, não as formará nunca mais facilmente.

No caso presente o regime hidrobiológico totalmente ainda não foi quebrado (uma parte do ciclo apenas foi desfeito: a lagôa está em estagnação oligohalina, deverá seguir um rápido desequilíbrio de con-

centração e depois entrar em estagnação meso ou polihalina, assim como Oliveira descreveu em Piratininga e Itaipú). Estes 3 anos, de 1951 até 1954 ainda não deram para estragar a formação marginal, ainda se mantem as mesmas *Ruppia, Chara, Enteromorpha, Myriophyllum, Ulothrix* que haviam em 1950. Estão elas lá perfeitamente viçosas, o plancton ainda é rico de *Bacillaria, Navicula, Pleurosigma, Rhopalodia, Anabaena,* etc. Se o peixe e o camarão entrar ainda acharão a mesma biocenose que costumavam achar antes de 1951, e o planton que virá do mar enriquecerá a fonte de alimentação para os peixes. Não deixemos que se percam por completo estas comunidades que ainda poderão dar sustento a duas ou treis milhares de toneladas de pescado por ano! Aumentemos sempre as fontes produtoras de alimentos para um povo sub-nutrido! O nivel máximo da lagôa não vem ter importancia para o presente caso, porque no tempo antigo a lagôa só tinha peixe quando era esvasiada, isto é, estando no mesmo nivel que está hoje, em Dez. 1954, cota 1.5 m. Não houve alteração no balanço calorífico, pois os caracteres de lagôa vazia, são os que tem hoje, e são aqueles quando Maricá esteve em plena produção.

A única coisa que falta hoje é entrar agua do mar, trazendo os camarões, peixes: tainhas, paratís, corvinas, robalos, etc... Quanto ás condições da lagôa elas estão hidrobiologicamente tão perfeitas como eram antes de 1951.

Enfim, ha necessidade de:

1 desobstrução em Ponta Negra, para que a agua circule entrando e saindo 630 000 m^3 em cada maré enchente e vazante.

2 desobstrução no Cordeirinho, para que a agua salgada chegue até Maricá, assim como os camarões e o peixe.

3 dinamitar as pedras que impedem a entrada do camarão, se possivel, conforme já foi exposto.

4 Vigilancia não deixando, se a lagôa vier a ser novamente produtora, de que se espalhe petróleo e derivados sobre as aguas.

5 Vigilancia sobre as futuras estações de tratamento de esgotos para que nunca tenhamos poluição fecal.

6 Medidas de proteção da natureza aquática impedindo futuras fábricas e usinas derramarem residuos tóxicos nas aguas ou nas aguas de riachos valas, ou quaisquer que venham ter á lagôa.

7 Colocar redes de tela na entrada, para que, quando o camarão e o peixe venha a entrar não volte outra vez para o mar, e de tamanho tal que deixe o planton entrar.

8 colocar redes em forma de funís de cercados, em cada laguna, para que o peixe de uma não volte á outra, causando rivalidades entre os pescadores de colonias diversas.

9 Se a barra se entupir frequentemente de areia, executar o molhe que foi projetado.

10 Caso venha a se tornar produtiva, instalar um "posto hidrobiológico" permanente para estudo da biologia de nossas aguas, ainda incipiente.

11 Abertura novamente de barra na Emergencia, temporariamente, para entrar agua do mar diretamente em Maricá.

Fazemos votos para que esta lagôa entre novamente na sua pujante produtividade, assim o sistema "Lagôa de Maricá" tenha encantos urbanísticos tantos quantos os tem a Lagôa Rodrigo de Freitas, e tambem tenha a volumosa pesca da metade anterior deste século.

REGIME ATUAL — Abaco (fig. 18).

O ábaco para computar o regime hidraulico de Ponta Negra atualmente, de 1953 até hoje, Janeiro de 1955, foi calculado como segue: (para fins limnológicos, demos mais que o canal tem: 20 metros de base, e com seção retangular.) A altura da coluna d'agua é contada acima do Zero Hidrográfico, nas marés mais altas atinge 2.0 metros. O canal começa a receber agua a partir da cota 1.5 m. O canal contado para o proposito de achar as declividades, foi 250 metros, assim a declividade $I = \frac{2.0 - 1.5 \text{ m}}{250} = 0.002$. O perímetro molhado $\chi = 21$, isto é, a largura do canal 20 metros mais duas vezes a altura molhada 0.5. A area ω, base $\times$ profundidade, $20 \times 0.5 = 10$ metros quadrados. O raio medio hidraulico $R = \frac{\omega}{\chi} = \frac{10}{21} = 0.476$. A velocidade u em metros, de acordo com a formula de Bazin, foi facilmente avaliada pelo ábaco da hidráulica de Torricelli, é

$$u = \frac{87 \sqrt{RI}}{1 + \frac{\gamma}{\sqrt{R}}}$$

O valor de Y depende da natureza do fundo, aqui, segundo Dr. S. Braga é = 0.85.

Atualmente os resultados são velocidade = 1.3 m por segundo, e a descarga, $Q = u. \omega = 1.3 \times 10 \text{ m}^2 = 13 \text{ m}^3$ por segundo. Mas o regime não é uniforme, os dados foram projetados em figura de ábaco, o "volume descarregado" representado em algarismos brancos dá o resultado em milhares de m^3 (Abcissa — tempo em segundos, ordenadas descargas em m^3. Volume = a superficie, obtida com um integrador.)

Durante as duas horas de marés as mais altas, achamos 32 800 m^3 o máximo que pode entrar para a lagôa.

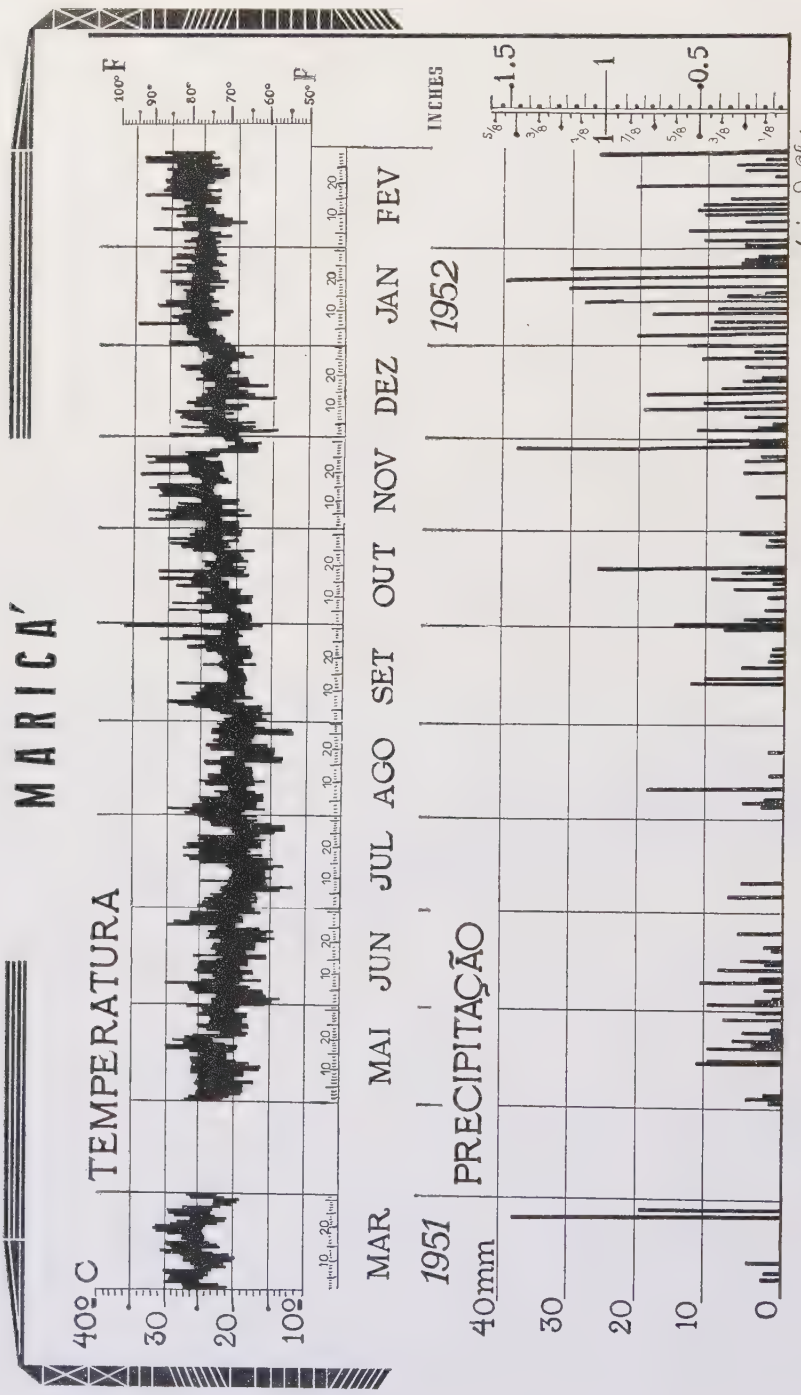

MARICA'
TEMPERATURA
40º C
30
20
10º
100º F
90º
80º
70º
60º
50º F
MAR MAI JUN JUL AGO SET OUT NOV DEZ JAN FEV
1951
1952
PRECIPITAÇÃO
40mm
30
20
10
0
INCHES
1.5
1
0.5

Fig. 7

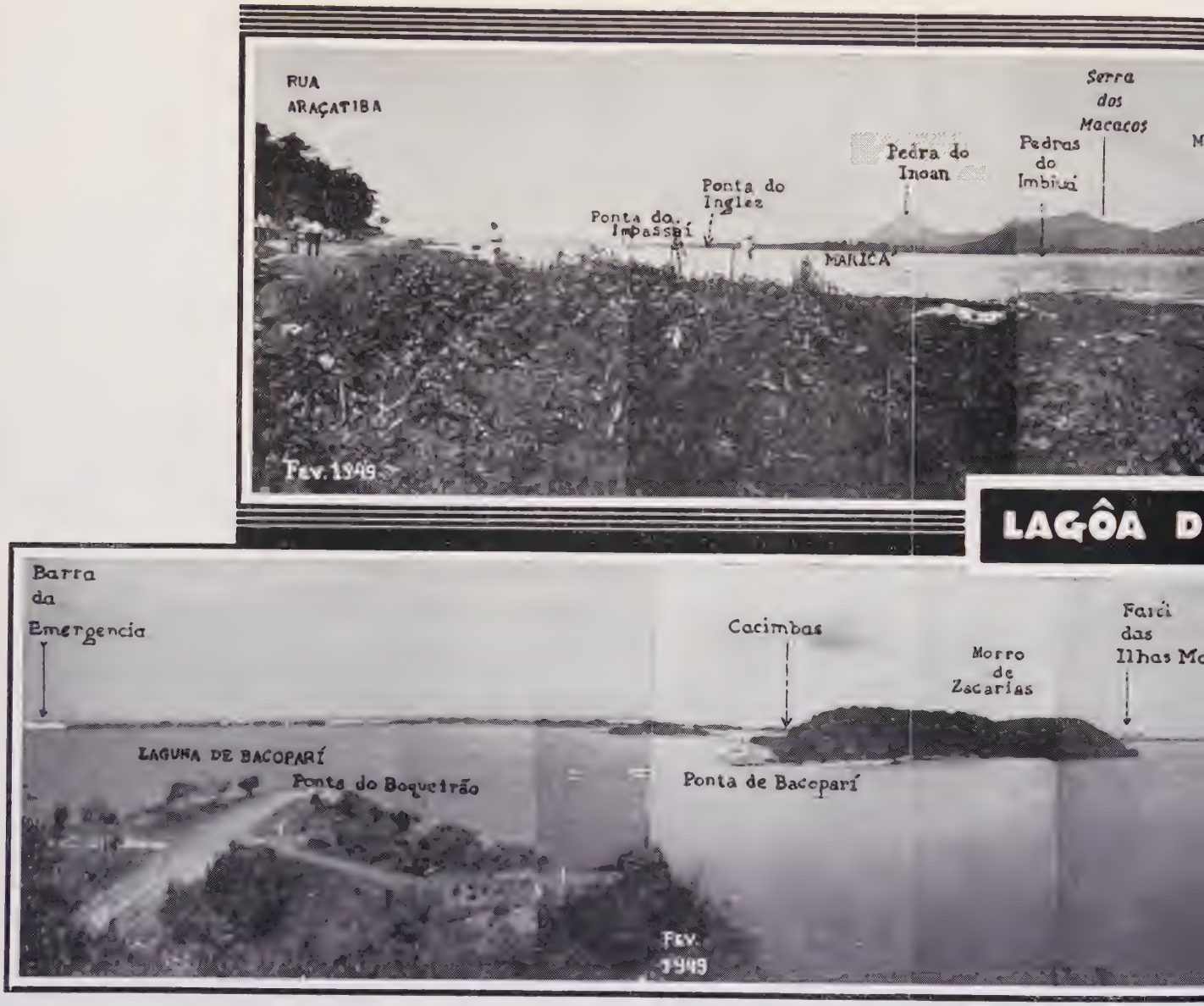
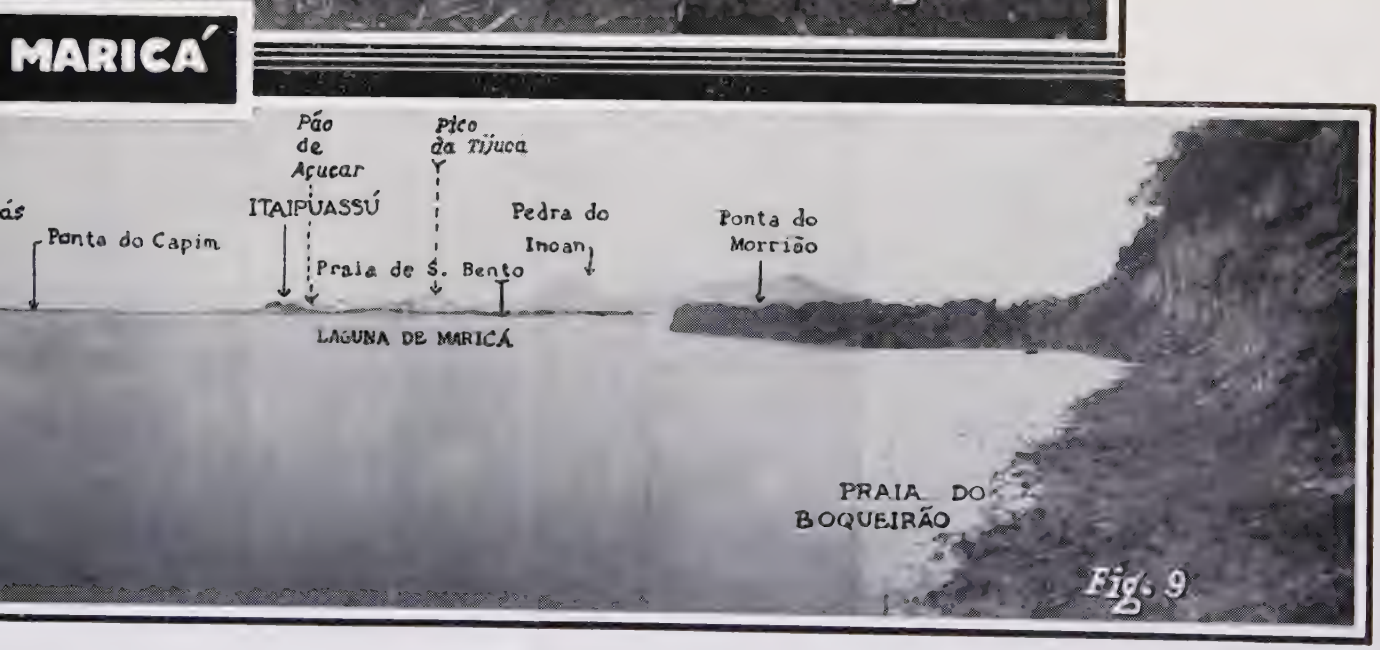


FIGURA 8. — Fotografia batida no local onde hoje está o Frigorífico; lagoa no tempo antigo — a rua de



atiba sem o cais do Frigorífico. FIGURA 9. — Lagôa no tempo antigo, tomada no Morro do Boqueirão.

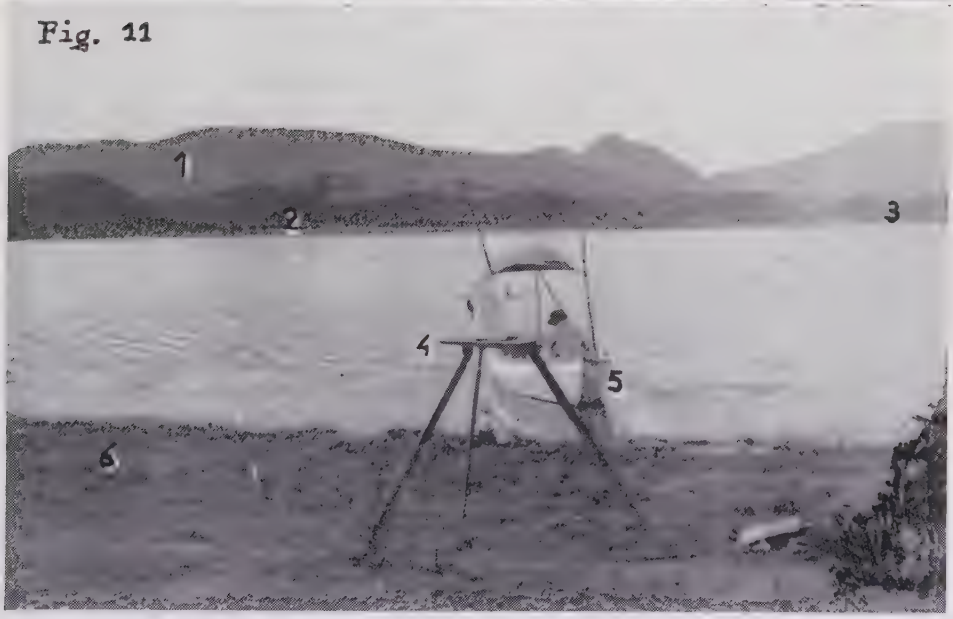


FIGURA 10. — 1. — o Cais do Frigorífico de Maricá, em frente ao canhão, a soleira onde tomamos as cotas de nivel; vê-se a lagôa na cota 1.2 metro. Este nivel corresponde ao de "Lagôa vazia", o mesmo que foi fotografado a fig. 8.2 — colonia de Pesca e escola. — 3. — o Frigorífico; durante as observações ficamos instalados na sala à esquerda, por muita gentileza do Dr. Domingos Abbes, da Secretaria de Agricultura, de Niteroi; foi quem instalou o frigorífico. — 4. rua Araçatiba. — 5. praia. — 6. zona com *Ruppia*. Notar no tempo antigo as aguas subiam até a cota de 2.4 m.

FIGURA 11. — 1. Serra do Cajú. 2. — ponta do Padre, com vegetação marginal de agua doce. 3. — entrada do canal do Cordeirinho, para a laguna de Guarapina. 4. — uma prancheta de trabalho e 5. — o bote, tipo esporte, com motor central, e toldo improvisado que uscamos navegando toda a lagôa. 6. — *Stenotaphrietum* com *S. glabrum, Sporobolus, Acicarpha spatulata* e compostas ruderais.

Fig. 12

Fig. 13

FIGURA 12. — em 1, a lagôa de Padre, tabúas na margem; em 2, já é a lagôa de Gururapina, atraz do morro. 3, 4, 5 — várias ilhotas que apareceram na lagôa vazia.

FIGURA 13. — 1. — o Falso Pão de Assucar; 2. — margem sul da Lagôa do Padre; 3. — vegetação da restinga da Lagôa do Padre; 4. — Morro do Inoan; 5. — a lagoa do Padre; 6. — Serra dos Macacos. 7. — *Panicetum*, de pouca altura, com *Panicum racemosum*, *Panicum appressum* e *Sporobolus virginicus*. 8. — Moita com pitanga de flores brancas *Eugenia uniflora*, e várias *Bromeliaceae*. 9. — Um mangue de praia: *Scaevola plummeri*, e entre 8 e 9 vêm-se as riscas de *Remirea maritima* a "pitazinha da areia".

FIGURA 14. — A laguna de Maricá, depois de saneada. 1. — margens que se enxugaram e ficaram a seco, *Stenotaphrum* em dominancia e várias outras gramineas e ciperáceas. 2. Frigorífico. 3. — a parte com *Ruppia,* e figurada no mapa da fig. 3, Mombuca.

FIGURA 15. — Vegetação na Laguna de Gururapina com a grande *Euphorbiaceae Euphorbia* sp. "dedo de moça" era onde iam ter as aguas da lagoa na época das enchentes. 2. — terreno recentemente enxuto. 3. — vegetação pioneira. 4. — uma "cacimba" feita na hora por duas crianças, uma delas já piza em agua doce, pronta para ser bebida, e para os usos da agua potavel.

Fig. 16

Fig. 17

FIGURA 16. — Corte feito pelo D.N.O.S. de Gururupina para o mar. 1. — Serra do Jaconé que vai a Ponta Negra; 3, 4, 5. — zona negra, aspecto turfoso. 6. — parte escavada em areia.
FIGURA 17. — 1, 2. — Rocha escavada em Ponta Negra. 3. — máximo nivel das aguas na preamar. 4. — nivel mínimo; de 6 para 7. — aguas de montante para jusante.

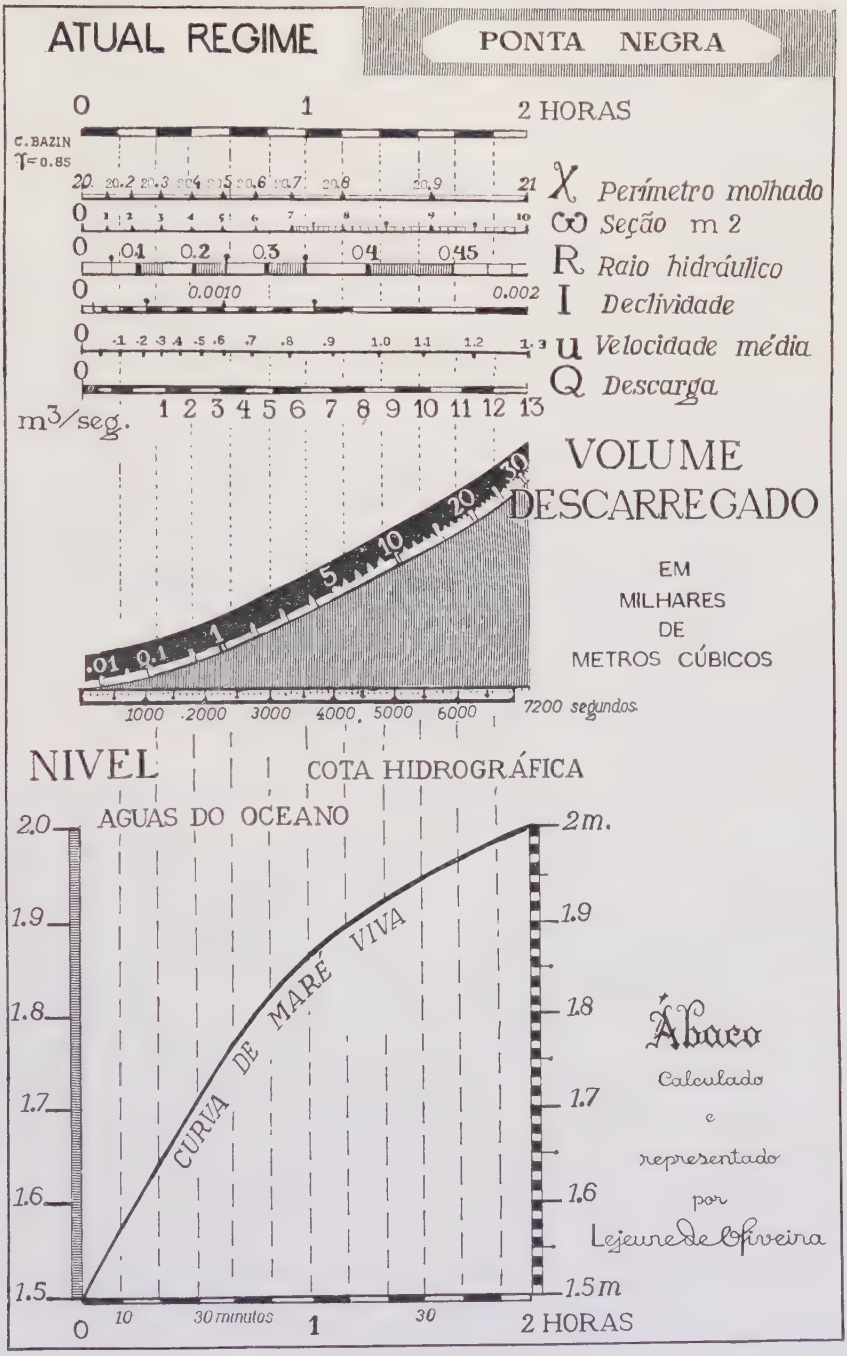

ATUAL REGIME
PONTA NEGRA
2 HORAS
C. BAZIN
γ = 0.85
χ Perímetro molhado
ω Seção m 2
R Raio hidráulico
I Declividade
u Velocidade média
Q Descarga
m³/seg.
VOLUME DESCARREGADO
EM MILHARES DE METROS CÚBICOS
7200 segundos
NIVEL
COTA HIDROGRÁFICA
AGUAS DO OCEANO
CURVA DE MARÉ VIVA
2m.
1.5m
30 minutos
Ábaco
Calculado
e
representado
por
Lejeune de Oliveira

Fig. 18

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a S. Excia. Vice Almirante Antonio Alves Camara, diretôr de Hidrografia, Oceanografia e Navegação os dados, cartas e plantas referentes á região de Maricá, que foram fornecidos á Estação de Hidrobiologia, mediante ofício do Diretôr do Instituto Oswaldo Cruz. Os autores agradecem a determinação dos vegetais superiores ao Prof. Dr. J. Geraldo Kuhlmann, diretôr do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (o que tornou possivel a exposição da flora ao redor da lagôa). Ao Engenheiro Dr. Jorge de Figueiredo, Diretôr da Divisão de Projetos, Ministerio da Viação, as informações com referencia ás obras de engenharia sanitária. Ao Dr. Domingos Abbes, da Secretaria da Agricultura do Estado do Rio a gentileza de colocar a nossa disposição uma sala do Frigorífico de Maricá, que nos serviu de laboratório, assim como auxílio na guarda e manutenção da lancha com a qual trabalhamos, que ficou no cais do Frigorífico. A Dra. Bertha Lutz, do Museu Nacional, agradecemos os Apontamentos de Herbário, da Flora Fluminense. Ao Dr. H. Azamor, do Serviço de Geografia e Estatística em Maricá, e ao vereador Sr. Francisco Sabino Costa dados a respeito do Município e da Pesca do local. Ao Engenheiro Agronomo Dr. Alceo Magnanini informações sobre as zonações de Sernambetiba.

A) BIBLIOGRAFIA IMPRESSA

1/ Editados por diretorias, autores anônimos:

Boletim Diário. Mapa do Tempo. Impresso e distribuído diariamente pelo Serviço de Meteorologia. Rio de Janeiro.

Tábuas das Marés. Observatório Nacional. Morro de S. Januário. Impressa e distribuída anualmente.

2/ Autores não anônimos:

Aragão, H. de; J. C. N. Penido; M. F. dos Santos & Oliveira, Lejeune
1939 Relatório sobre a situação da Lagôa Rodrigo de Freitas sob o ponto de vista biológico.
Mem. Inst. Osw. Cruz, 34 (4) : 457-563.

Bazin, M.
1897 Étude d'une nouvelle formule pour calculer le debit des canaux decouverts. (Coeficiente γ).
Ann. des Ponts et Chaussés : 41 (1) p. 20.

Brito, S.
1944 Saneamento da Lagôa Rodrigo de Freitas.
Obras Completas de Saturnino de Brito, vol. 15, 1-91.
Instituto Nacional do Livro; Rio de Janeiro.

Dansereau, P.
1947 Zonation et sucession dans la Restinga de Rio de Janeiro.
I. — Halosère.
Rev. Can. Biol. 6 (3) : 448-477.

Day, J. H.; N. A. H. Millard & A. D. Harrison
1952 The ecology of S. African Estuaries.
Trans. R. Soc. of South Africa 33 (3) : 367-413.

Day, J. H.; N. A. H. Millard & G. J. Broekhyusen
1952 The Ecology of S. Afr. Estuaries; Part IV — The St. Lucia System. Trans. R. S. S. Africa (34) 129-141.

Faria, A. & E. Magalhães
1939 Lagôa de Saquarema.
Bol. Min. Agric. — Setembro: p. 1-23. Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro.

Hedgpeth, J. W.
1951 The classification of estuarine and brackish waters and the hydrographic climate.
Treatise on Marine Ecology, 11 : 49-56.

Hedgpeth, J. W.
1953 An Introdution to the Zoogeography of the NW. Gulf of Mexico.
Publi. Inst. Marine Scienc. 3 (1) : 111-224.

Lamego, A. R.
1945 Ciclo evolutivo das Lagunas Fluminenses.
Bul. Div. Geol. Min. n.º 118 : 1-48.
Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro.
(Com 1 mapa geológico da Lagôa de Maricá.)

Magnanini, A.
1953 Contribuição ao estudo das Zonas de Vegetação da Praia de Sernambetiba.
Arquiv. Serv. Florestal, 8 147-232.

Millard, N. A. M. & A. D. Harrison
1953 The Ecology of South African Estuaries.
Part V. — Richard's Bay.
Trans. R. Soc. S. Africa, 34 (1) 157-175.

Naumann, Einar
1931 Limnologische Terminologie. (Dicionario de Limnologia, vol 9, fasciculo 8, do Tratado de Metodos biologicos de Abderhalden) Abtl. 9, Teil 8, Hand. Arbeitsm. Abderhalden; Urban & Schwarzenberg, Edit. Berlin.
(produção de lagos, p. 576 et seg.)

Oliveira, Lejeune de
1949 Estudo Hidrobiológico das lagôas de Piratininga e Itaipú. Mem. Inst. Osw. Cruz 46 : 673-718.
1953 *Crustacea Amphipoda, Melita lagunae* p. 316
Mem. Inst. Osw. Cruz, 51 : p. 316.
1954 Sobre a presença do copepodo *Mesocyclops longisetus* (Th) no plancton de uma laguna litoranea.
Mem. Inst. Osw. Cruz, 52 (1) 239-244 Est. I e II.

Santos, L.
1922 Hydraulica Applicada. Vol. 2.º p. 437-497 : Canae.
2 volumes. Belo Horizonte.

Scott, L., A. D. Harrison & W Macnae
1953 The Ecology of South Africa Estuaries.
Part II. — The Klein River Estuary.
Trans. Royal Soc. S. Africa, 33 : 283-330.

Silva, M. F. A. & C. Heck
1924 Roteiro. 3 volumes. Imprensa Naval. Rio de Janeiro. (Ponta Negra § 1672; Maricá § 1673-1677 Lagôa de Gururupirá § 1677).

Sverdrup, H. U.; Jonhson, M. W & R. H. Fleming
1942 The Oceans
1 vol. Prentice Hall. New York.

Thienemann, A.
1951 Vom Gebrauch und vom Miszbrauch der Gewasser in einem Kulturlande. Arch. f. Hydrobiologie 45, p. 556-583.

TORRICELLI, G. Idraulica pratica i teorica. 3 vol. Milano. 1912.

ULE, E Die Vegetation von Cabo Rrio. 1901 Engl. Bot. Jahrbuch, 28 : 511-528.

WELCH, P. S.
1948 Limnological Methods. 1 vol. Blakiston C° Philodelphia.
1950 Limnology. 1 vol. Mac Graww Hill. New York.

B) BIBLIOGRAFIA MIMEOGRAFADA

LUTZ, Berta
1936 Apontamentos do Herbário do Museu Nacional, sobre a Flora Fluminense; p. 1-53.
Museu Nacional, Quinta da Bôa Vista. Rio de Janeiro.

C) MAPOTECA

A/ Mapas, cartas e plantas impressas

I/ Cartas geodésicas, hidrográficas, marítimas.

ANÔNIMO
Carta do Rio de Janeiro ao Cabo de S. Tomé; escala de 1/282984 na latitude de 22°40'. Fornecida pela Diretoria de Hidro grafia; Impressa na Ilha Fiscal, no dia de distribuição com as correções as mais recentes, para os navegantes.
Tambem a venda na Livraria Francisco Alves. Rio de Janeiro.

ANÔNIMO
East Coast of Brazil : Cape S. Thomé to Rio de Janeiro, from French Surveys 1863-1867, with additions from various Sources to 1936. U. S. Navy Chart n.° 1674.
Hydrographic Office, Washington.

B/ Não impressas, mas com copias em papel ferroprussiato.

ANÔNIMO
Mapa organisado em observação ao Decreto Lei Nacional n.° 311. Municipio de Maricá. Visto por L. Souza.
Secretaria da Agricultura. Comissão da Carta do Estado do Rio de Janeiro. Niteroi.

ANÔNIMO
Planta topográfica, Maricá, Escala 1 : 10000, 1.° Distrito.
Idem, Itapeteiú, 2.° Distrito; Idem Inoan, 3.° Distro. Prefeitura Municipal de Maricá; copia em papel ferroprussiato.

ANÔNIMO
Planta aerofotográfica, n.° 2297, Niteroi, Maricá e Saquarema.
Em Papel Copia. Escala 1 : 50 000 Departamento Nacional de Obras e Saneamento. M. V. O. P. Rio de Janeiro.

C/ Cartas fotografadas (Foto-teodolitos, aero-fotos)

Carta aero-fotogramétrica, estereocópica, vista em relevo no autocartógrafo. Consultada na Diretoria de Hidrografia Série n.° 55601, sendo 15 mapas aéreos : 15 — laguna Brava : 16-17 : Canal de S. Bento; 18-20: Lagôa de Maricá; 21-23 : Laguna de Bacoparí; 25 : Lagôa da Barra; 27 : canal do Cordeirinho; 28 : lagôa do Padre; 29-31 : Lagôa de Gururúpirá e Ponta Negra.

D) DATILOGRAFADOS, em poucas cópias, não impressos. (Consultados)

Braga, Saturnino
1947 Saneamento da Lagôa de Maricá. Memória n.º 62, p. 1-61, Departamento Nacional de Obras e Saneamento. Ministerio da Viação. Rio de Janeiro.

Sampaio, L.
1947 Projecto e Regularisação do Canal do Cordeirinho. Relatório 3047. Arquivo Técnico do Dep. Nac. Obras e Saneam. M.V.O.P.

Sampaio, L.
1947 Ligação das Lagôas do Padre e Guarapina. Relatório 3050; Arquivo Tecn. D.N.O.S. M.V.O.P. Rio de Janeiro.

E) MANUSCRITOS:

Azamor, N.
1950 Livro de Registro dos nomes geográficos, pedras, pontas, enseadas, praias e logarêjos do Municipio de Maricá. Serviço de Geografia e Estatística.
Maricá. Estado do Rio de Janeiro.

Costa, F. Sabino da
1954 Livro de Ocurrencias da Colonia de Pesca de Maricá. Relatórios enviados ao Serviço de Caça e Pesca, Rio de Janeiro. Maricá.

Biogeographic and Hydrobiologic Observations on the Lake of Maricá

by

Lejeune P. H. de Oliveira
(Head of the Hydrobiological Laboratory)

Rubem do Nascimento
(Professor of Hydrochemistry)

Luiza Krau
(Assistant of Hydrobiology)

and

Arnaldo Miranda
Assistant of Hydrochemistry)

(With 18 figures and 1 aerophoto)

The South American coast, along the State of Rio de Janeiro, in the section comprised between Brazil's capital and the town of Cabo Frio (U.S. Hydrogeographic Office Chart n. 1674), shows, on its east-western shore, a line of sand dunes roughly 60 miles long. This is where several littoral lagoons are located, disposed in a line parallel to the coast, and covering part of the low-lands (Baixada Fluminense). These lagoons are situated between the continental mountains and the straight Atlantic Ocean beaches. Extensive roads, starting from Niteroi, the State capital, lead to he lakes of Piratininga and Itaipú. Seven years ago, in 1948, Oliveira published the results of hydrobiologic studies effected in these two lagoons (in Mem. Inst. Osw. Cruz, vol. 46, p. 673-718). The present paper is the result of observations made on another lagoon — Maricá — which lies more to the east, immediately after Itaipú.

The "Maricá System" comprises six inter-connected lagoons (Lagunas), the southern margin of which is straight and sandy, approximately 13 miles in length. The lagoons which form this system are: Brava, Maricá, Bacoparí, Barra, Padre, and Gururapina. The widest section of the system is situated in the north-south direction — about two miles wide — and situated in the Lake of Maricá itself, from Araçatiba Beach to the village of Zacharias (5-7, fig. 1; fig. 2).

Maricá is situated at about an hour by car along the Niterói-Campos Road, or at half an hour, also by car, on the road boardering the Ocean, along the sand dunes. On Gururupira Lagoon, there exists a lighthouse, the Ponta Negra. Railway travelling (Maricá Railway) was quite popular

in former days but is now little used for passenger transport due to its morosity. Boat transportation from Rio is not in common use, since no landing facilities are available, the surf becoming rather rough after 1.00 p.m. However, it takes fishermen and yacht-men half an hour to sail from Rio to Ponta Negra. At present a yachting club is being built in Maricá, which will permit sail-boats starting from Rio to head into the lagoon by way of the Ponta Negra Canal, as yet offering entrance only to 1-foot keel vessels. Also, desobstructing sand-moving work is being carried out by the Baixada Fluminense Service, for navigation purposes.

Ponta Negra is a small promontory which owes its name — Black Point — to the colour of its rocks. It is situated half-way between Rio and Cabo Frio, the lighthouse itself being situated at 22°57'30" South Lat., and 42°40'00" West Greew. Long.

SURFACE

Fig. 1 is a map which illustrates the lake at low water marks, in accordance with Municipal Chart, Decree n. 311, March 2, 1932. The high water marks for the year 1950 were obtained in charts published by the Navy Coast Survey.

The surface records are roughly indicated in 1/50,000 topographic charts:

TABLE 1

Surface of the Maricá Lake

LAGOONS	HIGH WATER, OLD TIME		LOW WATER OLD TIME		LOW WATER, PRESENT STAGE	
	Square kilometers	Square miles	Square kilometers	Square miles	Square kilometers	Square miles 1 sq. m. = 258.99 Ha
1. Brave	.10	.004	075	.2	0 7	.27
2. True Maricá Lagoon	20 50	7 8	18 30	7.1	18 4	7 1
3. Baa Koparee lagoon	4.3	1 66	2.6	1 0	3.61	1.39
4. Bar laggon	7 4	2 86	6 2	2 4	6 22	2 44
5 Lagoon	1 6	.62	1.2	.4	1.2	4 6
6. Little Lamb channel	2 9	1 24	.9	.3	1.9	.73
7. Goo Roo-Rapeen lagoon	9 4	3.6	6.6	2 4	8.6	3.3
Total, the lake	46.2	17 8	35.8	13.8	40.00	15.4

At low tide Maricá is at a level with the sea, as also tidal. Between high tide and low water an area of around 4 sq ml is exposed to inundations. Map fig. 1: 1 — high water mark; 2 — low water mark; 3 — dotted section, southern end of the lagoon, sandy region; 4 — Ponta Negra and Zaccharias rocks.

METEOROLOGY

Since air conditions affect the biological conjuncture of the lagoon, they are herein briefly summarized, in accordance with data furnished by the Meteorology Service. Maricá has a tropical climate, where even in the coldest months the temperature is still above 65° Farenheit (18°C). As per figures referring to the years 1951-52, the coldest day in that period showed a temperature of 54°F (12°C); during part of the year the temperature oscillates between 72° and 80°F (22°-26°C). Rainfall: 935mm yearly, for 1951 and 1952, as follows:

TABLE 2

Rainfall

PRECIPITATION 1 mm per 1 square m = 1 liter	Inches 12 inches per 1 square foot = = 1 cubic foot)
1951	
Março–71 mm	2 79 inches
April–70 mm	2 75
May–67 mm	2 64
June–51 mm	2 00
July–12 mm	0 50
August	1 22
September	1 42
October–80 mm	3 15
November–75 mm	2 95
December–113 mm	4 44
1952–January–216 mm	8 50
February–113 mm	4 45
TOTAL–932 mm	36 91 inches

The highest rates correspond to the months of December, January, and February, while in the winter months no heavy rains occur.

Winds: Little water stirring is observed in the lagoon, with the exception of movement occasioned by wind. A strong southwestern wind indicates heavy rainfalls or storms shortly due. Normally, the daily winds which rise after midday stir up the waters to some extent, impelling the decaying *Ruppia* weeds towards the shores. There is also vertical movement, the water surface becoming suddenly cold on cool days, when the black and muddy botton water rises to the surface.

Streams: Several small, slow brooklets flow into the lagoon. The silt-laden rivulet waters present a brownish coloration, due to dissolved

humus; in fact, the botton of the lagoon can never be seen, on account of the great amount of suspended matter.

In order to be able to estimate the variation of salinity in the lagoon, it is necessary to know the rate of rainfall.

TABLE 3

BASINS	Surface (km2)	Square miles
Mountains Inoan, Tiririca, Taquara rivers Inoan, etc.	30 3	
Mountains Macacos rivers Madruga, Canal São Bento, etc.	50 2	
Mountains Cassarotiba, streams Buriche, etc.	20 3	
Mountains Silvado, Streams Mombuca, etc.	64 0	
Mountains Caju, River Caju	18.0	
Mountains Jaconé, streams Doce, etc.	47.2	
Hydrographic basin	230.0	89
Hydraulic basin	40.0	15.4
TOTAL	270	104.4

The salinity rate of the lagoon tends to diminish, due to successive dilutions. If we admit the salinity rates of ocean and lagoon to be equal after the "open lagoon" period, S = 34 1,000. In April, with a precipitation of 70 mm (or .76 inches) in the lake, it will fall: 46 sq km by t0 mm = 3,220,000 sq m of water; or 11,400 ou ft of water. Considering a mean lagoon depth of 1 meter (or 3.2 ft), we shall have: 34 g for 460,000,000,000 liters lagoon water (or 16,300,000 cu ft), and X grams of salt in $460 + 3.22 \times 10^9$; salinity, therefore, is X = 33.6. Taking into consideration rain water as well as the water of the streams which flow into the lagoon, we shall have, in a 249,5 sq km area: 70 liters $\times$ 252,000,000 = 17,640,000,000 liters lagoon capacity. $463{,}220 \times 10^9$, resulting in

$$(463.22 + 17.64)\ 10^9 = 480.86 \times 10^9,$$

whereby salinity is reduced to

$$S = 32.6/1{,}000.$$

In accordance with the graphic (Fig. 7 — Rains), salinity rates throughout the year should read as follows:

May, June: 30; July: 28; August: 27; September: 21; October: 20.6; November: 11.4; December: 8.4; January: 5.6; February: 4.8.

If the evaporation rate, is taken into account and the Sverdrup, Johnson and Fleming formula, is used we shall have: 1,110 mm evaporation South lat. 23°55' to 22°00, wit a resulting average of 800 mm evaporation; 1,110/800 mm = 1.39. Thus, February for instance, should in reality read: $4.8 \times 1.39 = 7.0$ salinity rate, instead of the estimated 4.8.

The temperature and sanity records are by no means as complete as we might wish, since our trip lasted only 3 months. The above indicated dilution data, however, is the most probable and consists of a natural process occurring in that lagoon, according to observations of people who live there regarding mosquitoes and fish and fauna. Local fauna and flora are of the fresh water or oligohaline water kind: fresh water algae, *Spirogyra,* Vaucheriaceae and innumerable aquatic hexapods: Ephemerida, Libellula, Nympheaceae, some Odonata in larval stadium, Trychoptera and Pentamogenaceae. Heteroptera en *Typha dominguensis,* very abundant Lepidoptera, water Coleoptera, Diptera larvae, and Diptera Nematocera of Culicidae and of the Anopheli family: fully developed *Anopheles tarsimaculatus,* the malaria transmitting mosquito. Several Chironomidae, Hymenoptera, Myriapoda and spiders, snakes, caymans; the biocenesis shows fresh water (or almost fresh water: oligohalines). Oliveira found some *Mesocyclops longisetus* (Thiebaud) in the lagoon, in chemically low salinity water. Attention is called to the fact that *Mesocyclops longisetus* had never before been found in the lagoons in the proximities of the sea.

Streams. — The rain water which falls on Tiririca Hill flows into Lagoa Brava, connected to Lagoa Maricá by means of a canal — São Bento — roughly 10 yards wide in dry weather and 20 yards during the rainy season; this canal was made by the Public Health Service, in an attempt to drain the flat-lands. Rains falling over Inean Mountain are conducted into Maricá Lagoon. Morro Grande Ridge, on the Maricá side of the mountains, also sheds its waters into this lake, through the Mombuca and Imbassaí brooks. In periods of water abundance, the first of these rivers measures 20 yards in width, the second around 8 yards at their mouths, both of these rivers being the result of alluvium. The Montanha do Lagarto (Lizard Mountain) waters are drained by the Ubatiba Brook. The Cajú River, coming from the mountain bearing the same name, is 7 feet wide. The Doce, which flows through the Jaconé lands and runs into Gururupira Lagoon, is a permanent stream 70 feet wide during rainy weather. In a general way, only rivers more than 26 feet wide are permanent, the rest being temporary only. The 21 streams important to Maricá Lagoon are: Bambú, Madruga, Salto, São José, Imbassí, Cunha. Itapeba, Burriche, Novo Mombuca, Ubatiba, Itapeteiú, Roncador, Cajú, Jacaré, Pedro Guedes, Carangueijo, Doce, Bananal, Engenho, Paracatú.

GEOLOGY

We have summarised this chapter, based on the information of Alberto Lamego, in "Ciclo evolutivo das Lagunas Fluminenses, Divisão de Geologia, Boletim 118, 1945": No sand beaches occurred during the cenozoic era, tertiary period, at Maricá. The waves of the Atlantic Ocean dissolved between the capes of Maricá, Macoparí, Cajú; Araçatiba was an Atlantic beach, as were Boqueirão, Morrião, etc. Present lagoons were then bays, creeks, and coves, all of them opening into the sea; Zaccharias

was but an island. Successive changes took place, till they were all separated from the ocean by a long sand bank.

This barrier, beginning at Itaipuassú, is a long and narrow spit of sand, running in the east-west direction into the sea, passing through Zaccharias, Emergencia and ending at Ponta Negra. The Post-Tertiary Maricá Bay was thus transformed into the present day Maricá Lagoon. The mountains are azoic; the Morrião tertiary, Zaccharias red earth, and Imbassaí; the river mouths are alluvium and the dunes running from Itaipuassú to Ponta Negra are composed of sand.

HISTORY

We shall use the designation "Old Lagoon" for the part of the biological cycle of the Maricá Lagoon extending from the XIX Century to December 1950, during which there occured variations in waterlevel altitude, and "Modern Lagoon" to express the period from 1951 until the present time, when lagoon and sea have been on the same level, with little tidal influence. The "Old Lagoon Period" may be divided into several sub-periods:

1) Dilution occasioned by rains, with several mortalities due to fresh water;
2) high water period;
3) artificial opening, from the highest point to sea level, with noticeable marginal drying;
4) low water period;
5) polyhaline and mesohaline stagnation period.

High Water, in former times.

As a result of heavy rainfalls during Nov-Dec 1948 and Jan-Feb 1949, about 1 3/4 in. precipitation were read for the region, according to the pluviometer. The lagoon level attained slightly high marks. See, for instance, 2.4 m, Fig. 10. Part of the marginating roads was inundated. The rains impeded all progress and rendered the lake margins useless. Maricá was thoroughly inundated, with consequent formation of marshes, hundreds of small shallow pools of standing water, the quiet waters presenting extensive *Anopheles tarsimaculatus* occupancy, resulting in the usual malaria fever outburst. Thousands of insects, aracnidees and snakes, caymans appeared. Due to the high temperatures, in summer, there occurred black mud currents, from the bottom to the surface; these upwelling effects as well as the action of the winds caused a mixing of the water, whereby the salinity gradient almost disappeared.

When the water level rose to the point where the fishermen's shacks were flooded, the Barra lagoon was opened, and connected to the sea. In Feb. 1949, a long narrow trench was excavated in the very

soft sand of "Emergency Bar", Fig. 1, a place where, in former time, the lagoon naturally, without the help of human interference, emptied its waters.

This trench was excavated by fishermen, for draining purposes. The water flowed out the lagoon, through a narrow opening 6 palms wide, the water speed and sand transportation making this opening wider and wider, until it became a 5 feet slope, 1,000 feet wide. After a few days, the trench stood about 300 feet wide, as the water acceleration decreased; the whole phenomenon lasted 10 days, during the month of February 1949. Another "open lagoon" period took place, for instance, during March 1948, an occasion when the waters were also shed into the ocean (Aerophoto No. 1). Mouth of lake from 5 to 6, and 0 to 1 Km, about 1/20,000 natural scale from survey. 2 — Atlantic Ocean; 3. — light-brown, earth-coloured waters introduced into Ocean, went off into the sea half a mile, till diffusion had taken place, when the brown colour disappeared in the ocean green; the photo shows several circles of mixing waters. The mouth measured 262 feet inwardly and 493 feet outwardly, mouth length 328 feet; the bursting action of the waves results in a wave 920 feet in circumference, since there are 2,400,000,000 liters of water to flow out. With the width and length of the mouth, and with a slope of 2.5%, we can estimate discharge by hydraulic theorems and formulae (the same process can be used as Saturnino de Brito's, for Lagôa Rodrigo de Freitas, vol. XV, p. 65 § 85). Henceforth the lagoon became tidal. The spot where the artificial mouth was dug had always been known and used as an "Emergency Bar" (12 — Fig. 1). This mouth remained open as long as the lagoon water outflow was sufficient to wash away the sand there deposited by long shore currents.

Walking along the streets, we happened to see, in places where fishermen were apt to meet, advertisements reading as follows: "Fisheries Office" — According to Decree 784, Nov. 19th 1938, catching of white fish is forbidden until the mouth of the lagoon is obstructed. Signed ...".

Together with the ocean plancton, there entered the lagoon diatomaceae *Coscinodiscus, Melosira, Bidduiphia,* Centrales Baccillariophyta and several copepoda *Calanus* sp., living there for the duration of several months. The *Penaeus* prawn larvae developed in the ocean plancton entered the gap of the lagoon, possibly to feed. They were pressed closely together in a mass resembling a sphere, each crowded with hundreds of these crustacea. They came from the sea, got balled up upon reaching the lagoon, a stream of balls closely following one another. Prawns preferred a saltier lagoon, as compared to Barra Lagoon. During the day, most of their time was spent burrowing the soft sand bottom or sheltering among the *Ruppia* and *Enteromorpha* weed beds; at twilight they roused themselves and stirred to a swimming action. Slowly and regularly they occupied some of the lagoons, those where a higher salinity degree was found, but were never found in Brava and Gururupira, where *Macrobrachium carcinus* shrimp grew and were confined inside fresh water.

Similarly, just as prawns entered the lagoon, there also arrived fish and their breeds.

About a week after the opening, the sea got adjusted and reduced the artificial drainage mouth to the usual right shore line, the sands carried by winds and the Atlantic Ocean quickly blocking up the artificial entrance. (12, Fig. 1).

As this bar was being built up, a quantity of sea water was enclosed and mixed with the brackish water, thereby increasing the salinity rate. This was the polyhaline stagnation period, with 36, 33 to 19 grams of salinity per 1,000, the Barra Lagoon water being then alkaline: pH = 8.0 to 8.2 (10-11, Fig. 1). Prawns were impeded from returning to the sea. On June 15th fishermen who were members of the "Maricá Fisheries Colony" received permission to fish prawns at that particular time, a true paradise. People believe that Rio de Janeiro prawns spawn irregularly; when the lagoon was opened after heavy reainfalls prawns came in irregularly. After and during the prawn catching season, the lagoon waters undergo a dilution occasioned by river and rain waters, provided the year is a meteorologically regular one, i.e. if the pluviometer pointer reads around 23 — 31 inches (600 — 800 mm). However, if the year is not meteorologically normal, if no rains fall, with unsual evaporation and perduration of the polyhaline regimen for several months, the same occurs as already described by Oliveira for the Piratininga and Itaipú Lagoons (in Mem. I. O. Cruz, 1948).

Occasionally, after heavy rainfalls, the mouth of the lagoon was opened, unmethodically, whereby prawns get into the lagoon irregularly, very possibly not *Penaeus brasiliensis* but another species *P. setiferus* (?), or *Sycionia* sp. (?), or *Leander* sp. (-).

The spectrum classification of salinities used by us is that of Redeke, using the Hedgpeth system (Zoogeography of the Gulf of Mexico, 1953), as follows: fresh water: — less than 0.2/1,000; oligohaline: — 0.2 to 1.8/1,000; A-mesaholine: — 1.8-10/1,000; B — mesohaline: — 10 — 18.5/1,000; polyhaline: — 18.5 — 30/1,000; marine: — 30 — 40/1,000; and metahaline: — more than 40/1,000 salinity.

Maricá waters, when in marine, polyhaline and strong mesohaline regime were inhabited by fish: *Mugil platanus,* the tench, which migrates, yearly, from Rio Grande do Sul to the northeast Brazilian coast, according to old fishermen, formerly used to enter Maricá; the grey mullet: *Mugil lisa,* several conger: *Micropogon* sp., the "crooked-mouthed herring" *Brevoortia tyrannus,* and about twenty species of fish, as: little lagoon cod-fish, springer fish, barbel fish, mullet, a lagoon mackerel, a lagoon whiting, sturgeon, acara-fish, caratinga, carapicus, tampicos, faquecos, Brazilian gobies, pipes, dassies, etc. Several crustacea, as the commin blue edible crab: *Callinectes sapidus* (ble-green in that lagoon, with an 8 in. wide carapace), the yellowish vinaceous crab: *Portunus spinimanus,* the white cirripedia *Balanus amphitrite niveus* and the already mentioned prawns. Among mollusca we noticed that a

Solen sp. was abundant. These animals do well in these alkaline, marine and polyhale waters, but they completely disappear or do very poorly when the waters get neutral and fast acidulated, as well as oligohalines.

LAST OPEN LAGOON PERIOD

In 1951 (May 7th) there occured the last open lagoon period of Maricá. There were about 800 fishermen working, at 11 o'clock p.m., at Emergency Bar, 500 of them equipped with several sets of tools: shovels, hoes, mattocks, etc. The town's prawn-shop traders provided 1500 bottles of the best rum and other alcoholic beverages, to cheer up the people during the night. The water level reached the highest marks. Mr. Francisco Sabino da Costa, head of the Office of Fisheries, arrived from Rio de Janeiro, at 9 o'clock p.m., and delivered speeches insisting that fishermen refrain from anarchy and disorder, asking them not to open Maricá Emergency Bar, since it was the hydrologists and engineers' intention to collect several data — water speeds and hydrological coefficients — in the new Ponta Negra Canal, on the following day; should the fishermen carry on their plans, they would throw into confusion all data collected by hydrologists and by the Departamento Nacional de Obras. The fishermen, however, due to the liquor, were in high spirits, and nothing could detain them from their determination. Sand digging was thus started at mid-night. By the time the sun began to shine on the 8th of May, Maricá Lagoon had emptied its waters (including Brava, Maricá, Barra, Bacopari, Padre) into the Ocean. The Bar remained open during 28 days, i.e. from May 7th to June 4th, and this was the last occasion on which sea-water entered Maricá Lake.

Together with the sea-water, there entered prawns, *Panaeus brasiliensis* and grey mullet, *Mugil lisa,* which were fished for about 5 months, until November, in the Lagoon, and, equally in large numbers, "fire-eye mullet", *Mugil curema,* and the cruisermullet, *Mugil platanus* which reach the lagoon only when the entrance bar is sufficiently wide and deep. During May 1951, when tide waters went into and out of the lagoon, great quantities were fished of the caranx-fish, *Carangopsis amblyorhynchus,* which disappeared immediately after the sand blocked the bar (June 1951). Other fish found: the tunny *Trachinotus falcatus,* and the "guaibira" — *Oligoplites saurus,* in proportions smaller than those in which mullets and prawns were caught. Labraxfish of the genus *Oxylabrax,* i.e. *Oxylabrax undecimalis* (robalo), *Oxylabrax parallelus* (a Kangaroo-fish) and *Oxylabratus ensiferus*. A regular quantity of Eucinostimodae were found when de lagoon was open: *Eucinostomus harengulus,* "caratinga" *Diapterus brasilianus* and "salaam" *Anisotremus virginicus,* and in smaller quantities sciaena-fish *Micropogon opercularis* and Brazilian angle congerfish, *Micropogon undulatus*. When there exist no means of introducing water from the ocean into the lagoon, these fish do not come into Maricá Lake. The labrax fish

Oxylabrax undecimalis became fat, reaching 10 Kg; prawns got fat inside 2 months, and were fished until November, and found to be the best-tasting in Rio de Janeiro.

Great quantities of the "croked-mouthed herring", *Brevoortia tyrannus,* swam in the very shallow waters and continued entering the lagoon through the partially obstructed bar at Ponta Negra. They are useless to the Brazilian trade. Those were the data registered on the chief fish found during the last visit to Maricá.

PRODUCTIVITY.

Maricá stored impressive results by the voluminous fisheries formerly produced. The 1940 records were 3,416,00 metric tons of fish and prawns. Using a productivity index, according to the lake surface, we shall have 740 Kg of fish per hectare, per year. That production stopped in 1951.

HYDROCHEMISTRY

For comparison purposes, we furnish Dr. Rubem Nascimento's values for the major sea water constituents, next to the Maricá Lagoon mouth, at Ponta Negra, station 16 (16, Fig. 1), May 23rd 1953:

Cl	20.51
SO^4	3.68
Mg	1.367
Ca	0.457

This water represents a special local type, the proportions and properties of which differ from those of pure ocean water.

Compared to the Atlantic Ocean water, generally considered standard, its salinity is greater. The chlorinity standard is 19.000, the Ponta Negra chlorinity = 20.51. The proportions between several substances are changed; for example: SO^4 found was 3.68 (if standard proportions were maintained it would be Cl ... 20.51 and SO^4 ... 2.8). The ratio between Mg and Ca is the same as standard. The pH encountered was 7.8, an interesting result found in local water, but in real sea water it varies between pH = 8.1 to pH = 8.3. Nitrogen compounds found: Nitrate ... 1.826 mg L and Nitrites ... 0.001 mg L; the Phosphates ... 0.05 mg L. The several compounds of tosea showed H^2S ... 0.122 mg L at Ponta Negra entrance, in the channel, between stations 15 and 16 (Fig. 1).

Determination by wet combustion, "oxygen consumed", present in sample was ... 1,4 mg L.

The oceanographic terms salinity and chlorinity are taken in the definitions given by Sverdrup, Fleming and Johnson: "The Oceans".

TABLE 4

Physical and chemical data from the Lagoon of Marica

LOCALITIES	Station 5 (5—fig. 1): Araçatiba close to Bomba of Cais 9th May 1953	Taputera Stone (map. fig. 3) 9th May, 1953	Station 6 (6—fig. 1) Off Morrião 9th May, 1953 (surface)	Boqueirão channel (between St. 6 and 7, fig. 1) 10th May, 1953 surface water	Boqueirão channel (between St. 6 and 7, fig. 1) 1 fathom depth 10th May, 1953
Physical data:					
Density 20°/20°					
Density 20°/40°					
Color of water, mg. per l., in Plantium		25 0	25.0	25.0	10.0
Chemical data:					
Chlorinity, Cl. g. per l.	-	2 924	3.710	3.619	4.069
Salinity, total dossolved solids, gr. per l.		7 120	6.797	7 141	7.454
Dissolved inorganic solids					
Inorganic nitrogen compounds:					
Nitrates, mg. p. l.		2.261	2.261	2.261	2 261
Nitrites, mg. p. l.		0.000	0.001	0.020	0.000
Amonium mg. p. l		2 0	2.8	2.8	3.1
Phosphorus (Ortho-PO') mg. p. l.		0.3	0.35	0.2	0.3
Calcium (Ca, mg. p. l.)		66.944	70 198	70.198	70.198
Magnesium (Mg. m_{e}. p. l.)		228.446	205 733	200.054	234.998
Sulfates (SO^4, mg. p. l.)		400.703	391.652	408.931	418.805
Silicon (SiO^2, mg. p. l.)		12.5	12.5	12.5	12.5
Dissolved organic matter:					
Oxygen consumed, wet combustion, $KMnO^4$) into zlkaline medium, mg. mg. per l.		8.4	8.6	9.4	8.6
Dissolved gazes:					
Dissolved oxygen, mg. per l	10.0	8 2	6.6	8.8	—
Carbon dioxide, mg. p. l.		.0	.0	.0	.0
Other dissolved gazes–Nydrogen sulfide, N^2S, mg. p. l.		1.429	12.973	0.558	14.498
pN.		7.85	7.85	7.80	7.90
Total acidity, in $CaCO^3$ mg. p. l		—	—	—	—
Alkalinity, phenolphtalein, in $CaCO^3$ mg. per liter		5.0	5.0	6.0	6 0
Alkalinity, mixed indicator, in $CaCO^3$ mg. p. l		60.0	63.0	60.0	6.20
Roughly, seawater % mixed in fresh-water		20.6% sea-water in 79.4 fresh water	19.5%	19%	21%

TABLE 5

Physical and chemical data from the Lagoons of Bacooparee and Bar

LOCALITIES	Station 8 (8, fig. 1) Bacoparee Laggon 13th May 1953	Station 9 (9, fig. 1) Flowerx Bay 16th May, 1953	Station 10 (10, fig. 1) Bar Lagoon 16th May, 1953	Station 11 (11, fig. 1) Bar Lagoon (surface water) 16th May, 1953	Station 11 (depth water) 16th May, 1953
Physical data:					
Density 40°/20°	1.0048	1.0050	1.0049	1.0049	
20°/40°	1.0029	1.0032	1.0021	1.0021	
Color of the water, mg. per liter in Platinum	15.0	20.0	25.0	25.0	45.0
Chemical data:					
Chlorinity, Cl. g. per 1	4.209	4.281	4.178	4.209	4.281
Salinity, total dissolved solids,	79.00	7.967	8.130	8.200	8.020
Dissolved inorganic solids					
Inorganic nitrogen sompounds:					
Nitrates, mg. p. 1	2.666	2.261	1.826	4.123	2.261
Nitrites, mg. p. 1	0.0	0.0	0.0	0.055	0.001
Amonium, mg. p. 1	2.8	3.4	3.4	2.8	2.8
Phosphorus (ortho-phsphates) mg. p. 1.	0.2	0.2	0.2	0.5	0.15
Calcium (Ca, mg. p. 1.)	77 172	68.172	70.198	72.326	72.326
Magnesium (Mg., mg. 0. 1.)	234.562	234.125	284.701	235.965	260.333
Sulfates (SO^4, mg. p. 1.)	400.703	415.514	451.717	617.100	546.716
Silicon ($Si\ O^2$, mg. p. 1.)	12.5	12.5	12.5	15.0	15.0
Dissolved organic watter:					
Oxygen consumed, wet combustion, $KMnO^4$ into alkaline medium, mg. per 1	9.8	9.6	10.6	7.20	10.20
Dissolved gazes:					
Dissolved oxygen, mg. p. 1	8.4	8.8	8.0	7.4	—
Carbon dioxide, CO^2 mg. p. 1	0.0	.00	.0	0.0	—
Other dissolved gazes–Hydrogen sulphide H^2S, mg. p.	6.874	10.535	6.656	0.7	—
pH	7.70	7.75	7.85	7.80	7.8
Total acidity, in $CaCO^3$ mg. p. 1.....V	—	—	—	—	—
Alkalinity, phenophtalein, in $CaCO^3$, mg. per liter	3.0	4.0	9.0	5.0	5.0
Alkalinity, mixed indicator, in $CaCO^3$, mg. p. 1	60.0	62.0	60.0	60.0	60.0
Roughly, sea-water % mixed in fresh water	22% sea water mixed in 78 of fresh water	22.5%	22%	22%	22.5%

TABLE 6

RESULT N.°	1	2	3	4	5	6
LOCALITIES	West portion of Priest Lagoon 16th Ma, 1953 (fig. 1)	Cordeirinho channel (14, fig. 1) 16th May, 1953	Gururapina Lagoon (15, fig. 1) 16th May, 1953	Negra Point, (16, fig. 1) 23th May, 1953	Gururapina 220 yards of the mouth	Gururapina channel, 1 100 yards from mount in Negra Point 23th May, 1953
Physical data:						
Density 20°/20°.....	1.0055	1.0053	1.0049	1.0259	1.0058	1.0055
Density 20°/40°.....	1.0037	1.0035	1.0021	1.0241	1.0039	1.0037
Color of water, mg. Pt. per L.....	25.0	55.0	—	0.0	30.0	26.0
Chemical data:						
Chlorinity, Cl g. per L. (oceanographic)..	4.56	4.28	4.6	20.51	4.8	4.7
Salinity, g. per L. (oceanographic).....	8.43	7.20	7.7	37.20	7.9	8.4
Roughly, sea-water % mixed in fresh water (oceanographic, Cl = 19/1,000: 100%).....	24%	22%	24%	109%	25%	25%
Dissolved inorganic solids						
Inorganic nitrogen compounds:						
Nitrates, mg. per L.....	4.1	4.5	4.1	1.826	2.6	2.6
Nitrites, mg. per L.....	0.0	0.0	0.0	0.001	0.0	0.008
Amonium, mg. per L.....	2.8	2.8	3.7	2.7	2.8	2.0
Phosphorus, (Ortho—O') mg. per L.	0.45	0.5	0.5	0.015	0.5	0.2
Calcium, (Ca mg. 0er L.).....	72.3	74.4	80.7	457.4	74.4	8.39
Magnesium, Mg. mg. per L.....	250.7	262.1	267.7	1367.2	248.5	249.4
Sulphates mg per L., SO4.....	533.9	474.3	513.4	3689.7	515.9	515.6
Silicon (SiO_2, mg. per L.)..... f	32.0	15.0	15.0	8.0	6.0	3.0
Dissolved organic matter:						
Oxygen consumed, wet combustion, $KMnO_4$, into alkaline medium, mg. per L.....	12.4	16.0	13.0	1.4	12.8	10.2
Dissolved gazes:						
Dissolved oxygen, mg. per L.....	8.8	6.6	3.2	—	6.8	7.6
Carbon dioxyde, CO_2 mg. per L....	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Hydrogen sulfide, H_2S, mg. per L...	1.8	11.3	25.3	0.12	1.4	0.7
pH.....	7.9	7.95	7.2	7.8	8.0	7.8
Alkalinity, phenolphtalein, in $CaCO_3$, mg. per L.....	5.5	5.5	—	32.0	11.0	5.0
Alkalinity, mixed indicator, in $CaCO_3$, mg. per L.....	72.0	65.0	65.0	130,0	82.0	77.0

Modern Sanitarised Lagoons

The government of Brazil has attached great importance to the top draining and Sanitation of the low-lands in the State of Rio de Janeiro. Since no sand obstruction occurs in places close to the shore rocks, it was decided to construct a permanent mouth instead of the "Emergency" sand-bar. Engineering work was started at Ponta Negra, by dynamiting of the hard ferrous rocks, and on May 8th 1951 this new mouth was inaugurated and put into public use (15, 16, Fig. 1, photo fig 17, profile fig. 6). By then the water level was changed, malaria had been eliminated by means of drying marshlands, drainage channels, chemical DDT insecticide action, drainage ditches, etc. The water was emptied and an area of four square miles was freed from humidity and diseases occasioned by the sting of malaria infected mosquitoes. The receding water revealed a series of young beaches, terrestrially uncolonized areas, where incipient plant communities are today developing.

Biogeographic Profile

Station 5, situated on Araçatiba Street, in the city of Maricá (5 — fig. 1, fig. 3 and photo fig. 8).

The eastern shore of Maricá Lake itself is Araçatiba; at low water tide (March 17 th 1951) the road stood 4 feet above the lagoon water level. Along the 24-feet wide humus and sand shore-line, there were found, mingled with many thread-like wracks, numerous balls measuring 1 or 2 inches diameter, formed by deteriorated RUPPIA MARITIMA and other aquatic Potamogetonaceae (*Myriophyllum* sp?) plants; some of them were dry, some dead, others wet, detrictus-like, a medium of 3 balls (pilae) being found in every square yard.

In the wet section of the shore there were found some *Melita lagunae* (Amphipoda), at a place covered with fine sand, feeding off decaying Ruppia weed. From the land, there were perceived, off shore, several rounded rocks which, judging from the air, seem to rise only one or two feet above the water, where there was found a zonation of *Balanus amphitrite* var. *niveus,* Cirripedia, alive at the old lagoon stage, nowadays only its test remaining there. This shore is a natural locality for crabs *Chasmagnathus granulatus,* in former as in present times. Abundant little grain-sized gastropod *Limnea* sp., thousands of which spread all over the shore. *Solen* shells were quite common in the mud, but are not to be found living nowadays. The shore in wet sections forms a carpet, where there is an abundance of several Cyanophyceae, among which Oscillatoriaceae occupy a space 40 feet wide, today presenting a blueblack metallic aspect, where formerly there was red earth. Salinity rate is 8 for 1,000, the lagoon being of the oligohaline period. Thousands of kinds of insects were found on its margins. On accasions of heavy rains, around 4 *Chasmagnathus granulatus,* which had died recently, are found per square meter (March 1951).

From Mombuca, Araçatiba Shore, Westward to Lemon Stones

(Fig. 2 and 3) (Fig. 14-1 and 3).

April 1953: Off Araçatiba shore, the 1 to 2 feet depth increases up to 5 feet in the middle of the profile, as shown in map, fig. 2, getting more and more shallow towards Lemon Stones.

Colour of water: apparently black, in several shades of green towards the shores (Atrovirens, Agrifolio, Bistre colours), from the boat. Transparence to a maximum of 3 feet, with the Secchi disc in the middle of the profile. Numerous beds of *Ruppia maritima* and of pond weeds Potamogetonaceae and water milfoil (*Myriophyllum*?), irregularly intermingled, as shown in fig. 3, Saco (Cove) do Mombuca, sheltered from the winds by the Araçatiba mountains, and shallow in depth. In the old lagoon period, this portion was more than 4 feet deep, and an important zonation for the feeding of fish. The number of fish feeding on the surface decreased (See fig. 14, no. 1 — a field nowadays, formerly covered with water). The aquatic beds of *Ruppia, Chara, maritima Potamogetonaceae* cover a surface of 1/2 to 1 or 2 hectares (1 to 5 acres); *Ruppia* and *Chara* flowered this April. Numerous oxigen bubbles are formed in these aquatic plants, with rich living blota, whereas the muddy depths paradoxically contain hydrogen sulphide. The *Characetum* islets form 1 foot deep beds extending over a surface of 300 by 100-200 feet, among other beds of *Ruppia*. Notice how very interesting it is that *Chara maritima* are found in a lake as shallow as Maricá, whereas, in the temporary European lakes, CHARA, according to the existing literature, lives in greater depths, such as 27 to 47 feet, or more. Near the Mombuca River mouth there are found *Eichhornia crassipes, Azolla*. We believe that this northern and southwestern portion of the lake will, within a few decades, constitute land.

Since aquatic birds are important to the economy of the lagoon waters, and since they are there found in large numbers, the following reference must be made to them: most of the white egret herons make their nests on trees, in the proximities of Antunes canal, near Bacopari Shore. The ibuiá black-birds occur in larger groups, flying all over this and other neighbouring lagoons, all year round, feeding extensively on prawns and fish; they fly in linear squadrons in a line parallel to the water surface. Several other kinds of aquatic and shore birds are also found: coots, lagoon diving ducks, ducks, mallards, marsh grebes, flamingoes, the names of which, both Indian and popular, are found in ornithologic papers; these birds eat large quantities of lagoon plants and animals. The fast-approching urbanism, however, is extinguishing them rapidly, due to the quantity of hunters and fowlers to be found in this region, so near to the city of Rio de Janeiro.

Morrião Mountain

Vegetation of this mountain: *Inga maritima* (Legumin. Mimosaceae), several "quaresmeiras", a tree with violet flowers in spring-time, *Tibouchina* sp. (Melastomaceae); the aroeiras *Schinus terebenthifolius* (Anacardiaceae); several species of small *Cassia* sp. with yellow flowers (Leg. Caesalp.). Orchids *Epidendrum ellipticum, Vanilla* sp. and numerous plants; the ferns *Pteris aquilinum* (Polypodiaceae); several epiphytic ferns — *Polypodium* sp. Among the sedges of three *Cyperus* and grasses *Andropogon* sp., *Paspalum densum, Sectaria* sp. Several sp. of Bromeliaceae, a *Commelina* sp. Dicotyledonae — the smartweed *Coccoloba polpunifolia,* Polygonaceae; *Portulaca* sp. *Aeschinomene hispida,* the "quebra-pedras" herb *Phylianthus* sp. Euphorbiaceae; several Cactaceae. *Pisonia campestris* (Nyctaginaceae); parsley plants: and a shore-parsley *Apium australe, Centella asiatica,* Umbelliflorae; a Myrsinaceae shrub; the borrage Cordia verbenaceae, Boraginaceae; a kind of fig. *Scoparia dulcis,* Scruphulariaceae; the madder shrub Rubiaceae; a vervain *Lantana nivea,* Verbenaceae; the nightshade *Solanum* sp., Solanaceae; the "juás" *Physalis* and of the compositae family — *Eclipta albiflora, Ethuia comysoides, Emilia sagitata, Eupatorium* sp., *Pluchea* sp., *Eregeson* sp. the common aspect of the woods in the State of Rio de Janeiro, maritime mountainous zone. This aspect is in danger of being destroyed by the progress of urbanization, terrestrial divisions, building of streets and roads, etc.

We are greatly indebted to Professor Dr. J. Geraldo Kuhlmann, Director of the Botanical Gerdens of Rio de Janeiro, who furnished the systematic determination of the above material.

Terrestrial plants were distributed to the graduate students of the taxonomic botany instruction course, at the Oswaldo Cruz Institute, identification by the students being done under supervision and direcion of Prof. Kuhlmann, to whom we express our gratitude.

Sector from Araçatiba to Zaccharias

(fig. 2, 5 to 7; fig. 1).

The surroundings are presented in map fig. 2, in French metres (1 Fr. m. = 39.3798 inches). Near Araçatiba beach, the water was black (March 14th, 1953), becoming transparent 200 yards off shore, 2 feet to Secchi disc, and at a distance of 1 mile to the SW it presented a black-green coloration, CUC 265, occasion on which we took the colour with the white disc; the yellow tonalities are due to the pronounced presence of Baccillariophyta of the genus *Rhopalodia* and *Nitszchia* and *Terpinosoe americana* in the placton. Near the Taputera Stones, it was of bistre colour, C.U.C. 252 with transparency (near Zaccharias shore, C.U.C. 310). *Ruppia* was found at a depth from 0 to 4 feet; at greater depths, no *Ruppia* was found, but only black mud.

The bottom of Maricá Laggon near the dunes, roughly 1 5 the total surface, is sandy with *Ruppia* covering the firm clay-sandy bottom. The water shows less turbidity near Imbassaí Promontory, were the bottom is sandy and argillaceous, so that it is possible to see the red and white spotted bottom 3 feet below.

In the center of Maricá Laboon are the Taputera Stones (fig. 2).

East of them the water presents (Table 4) a Chlorinity of 3.9 parts per 1,000, with roughly 20% of sea water and 80% of fresh water. Turbity estimate with the Secchi disc — just visible at a 1-foot depth, in a place where the bottom at a depth of 8 feet. Hydrogen sulphide in the bottom — 1.42 mg. liter; oxigen consumption higher than at Ponta Negra (8.4 mg. liter) nitrate: 0.0; nitrate: 2.261. In the center of Maricá Lagoon, we have dredged depths more than 4 feet several times, finding a black, brown-black or blue-black mud, this aspect, however, not being so desert and devoid of living population as that of Rodrigo de Freitas Lagoon (in the City of Rio de Janeiro, the bottom of which is entirely devoid of life, with the exception of an occasional worm, dead shells of molluscs and with frequent methane and H^2S bubbling when the mud is stirred with the Pettersen dredge. It is a paradise for anaerobic bacteria and microscopic algae, being inadequate for macroscopic aerobic animals). Maricá is quite the opposite, with living diatoms, worms and rotatoria, as well as a very good, luxuriant bottom (dec. 1954).

Itaipuassú and Barreira Capim Beach Pools (fig. 5)

Between Maricá Lagoon and the sea there is a barrier beach, consisting of two sand ridges parallel to the shoreline, the inner one of which is covered with camel coloured sand, the outer, with white sand. Between these two ridges there used to be a pool: the Itaipuassú canal, that in former times connected Maricá Lagoon to the sea. It was important but nowadays it dried out and is covered by a grammatum grass. Another pool lies next to the lagoon (Station 80, fig.), at a spot called Brejo do Capim, the southern margin of which is straight, the northern ondulated.

Zonation: the lagoon presents *Ruppia maritima* wigeon grass and *Chasmagnathus* crabs. On the lagoonward slope, there were found shrubs, *Cassia occidentalis*, popularly called "fedegoso" (a Leguminosae used to falsify coffee), and a *Mimosa* very similar to the "Maricá tree = *Mimosa sepiaria*", and an Asclepiadacea of the genus *Oxypetalum*, with its creeping rope-like stem, usually about 1/4 inch in circumference and several yards long; the convolve *Ipomea asarifolia*, a scandent plant, and the herbs, *Erigeron montividensis*, a compositae; a mint *Hyptis* sp. They all grow on a small elevation between station 80 and the pool. The slope leading to the pool comprises a wet portion carpeted with fine blue flowers of *Portulaca*, and it is the former boundary of the old lagoon at high water tide and the plants, arranged more or less parallel to the

margin, are: a black band formed by decaying plants, next the cattail *Typha dominguensis,* a discontinued group of floating *Salvinia* a 20 yards wide green coloured carpet, upon the surface layer and, in the middle, there is to be seen the water, black as coffee, neutral or slightly acid, and fresh. The aspect is to be observed on the other side of the pool, ending at the road (Estrada, fig. 5).

Beyond the road, one comes to the ridge of sand dunes, with the restinga plants, for instance: shrubs *Cassia uniflora,* palms *Diplothemium, herbs Euphorbia brasiliensis,* numerous Bromeliaceae, and Cactaceae. A 200 yard wide sand hill, formerly a pool, is now a field extending over 2 miles by 35 feet width, lately invaded by the grass gramineae *Stenotaphrum,* the genus *Hyptia,* so far as we were able to collect, as well as by the numerous restinga shrubs which it is impossible to mention in this paper. The other ridge, covered with a white sand, presents a growth along the same lines, restinga formation: bromeliaceae, several individuals of *Eugenia pitangae,* and on the seaward slope a convolve *Ipomea maritima, Sporobolus* sp., *Panicum* and plants commonly found on Rio de Janeiro sand dunes. In map Station 8 one can see, sea-shore: 1st: high tide mark, 2nd: highest tide of the year. In the wet ocean shore: *Emerita emerita* (Crustacea) and the ghost crab *Ocypode albicans* in deep furrows, near the high tide.

Equally, in the Itaipuassú Brejo there are to be found some fresh water furrows, very useful for the flocks of sheep, goats, horses, etc. "Cacimba" is one of the Brazilian designations for the almost superficial fresh water reservoirs, which are situated in a sandy, argillous, underground (fig. 6). The fisher village Zaccharias is partly supplied by abundant fresh cacimba water. Cacimbas lie behind the archeanic, granitic, Zaccharias mountain, which is covered with some red, white, black, violet coloured stripes of tertiary earth, with an argillous underground (Fig. 6).

The fresh water quantity is surprising, situated as it is between two big volumes of salty and brackish water: the ocean to the south and the lagoon to the north. From midday to about 5 o'clock, in the glaring sun, the dunes are very bright and hurt the eyesight, a barren tract of fine sand, dry as powder, accumulating temperature, of around 112° F (50°C), on which it is impossible to walk barefoot. In this sandy desert, the cactaceae wither and the bromeliaceae burn, due to the heat, and the sand is so fine that it is difficult to walk on. How very different from the refreshing, cool, shady oases of the restinga woods, with an argillous, firm, sandy ground, on which stand some fishermen shacks.

East of Maricá lagoon itself, there is situated Brava Lagoon (meaning "brave, savage, formerly a wild lagoon, with snakes, caymans, and fevers). This lagoon is connected by an artificial canal — São Bento canal — to Maricá (1, fig. 1), formerly farm-land of Benedictine monks; the canal water is fresh, though dark, sepia coloured (C.U.C. 681),

flowing slowly. This canal pours a distinctly acid type of water, pH = 5.1 and it is possible that it receives infiltrations from several peat deposits among the restingas. The mouth at S. Bento Beach (fig. 2) presents, on the water surface: the water hyacinth: *Eichhornia,* several little aquatic cabbage-plants, the very small *Lemna* duckweed, all of them a vigorous green; there are also some water snakes, beetles in large numbers; the ground near the mouth, starting about some 10 feet off shore, is taken by an assemblage of oligohaline spectrum, among them numerous fresh water fish: "robalos" Percidae, very short, and copepoda *Mesocyclops longisetus*.

100 feet westward to the canal mouth, a pond (Brejo) was formed, containing some water the year round, stagnant fresh water, with hydrophytes, cattails *Typha dominguensis,* and several bulrushes, some sedges and in the middle, floating hydrophytes such as water-lilies, *Nymphaea* among several pondweeds. In this pond the pH — 5.3 and the chlorinity rate is 0.045/1,000. The southwestern portion of the lagoon — called Saco de São José — has a firm sandy bottom, with wigeon grass, among the roots of which there are cotton-like masses of very fine green threads Ulothricaceae, and Cladophoraceae the water in this lagoon being less turbid because its bottom is sandy.

Vegetal Ecology of the Restingas

The beach of Maricá opens to the sea and is composed of white sand, the surf being stronger than the one of Copacabana Beach, in Rio de Janeiro. The zone where the sea water rises and falls presents no macroscopic plants, where there are found several isopods, annelids, living *Donax hanleyanus* (Mollusca) and the crustacea *Emerita emerita,* which keeps in the sand and catches food with its appendage every time a wave comes by. Several amphipods live here: *Orchestoidea brasiliensis* and *Talorchestia* sp. That is a wet zone, humidity always 100% ; in the dried out portion of the beach, where there is the first debris line, several shells are found, of *Pecten, Dosinia, Cardium, Mytilus, Pectunculus* and others, and sometimes an occasional carapace of the potunid crab *Areneaus cribarius*. Sea-birds are always seen feeding in that portion of the littoral.

Higher up we find *Ocypode albicans* (same as in Copacabana Beach), which digs a hole, about 1 to 2 yeards deep. After this last portion begins the rooted vegetation, excellently described by Dansereau, in 1947, "Halosera — Restinga do Rio de Janeiro". As described by Dansreau, we find: — the first association is *Iresinetum portulacoides* with a few odd *Paspalum* and an occasional *Paicum;* several *Alternanthera* and *Panicum reptans, Stenotaphrum, Ipomea littoralis,* the *Remirea maritima* (Cyperaceae), the *Scaevola, Polygala, Euphorbia,* etc.

At first sight, judging from appearances only, without transects and ecologist indexes, this is very much like the Sernambetiba beach zonation, as described by A. Magnanini, 1954.

At the end of these zonations, there begin the dwarf palm trees or "guriri palms", *Diplothemium maritimum*, in places never reached by sea-water. In these spots there is found a small reptile, a newt: *Liolaemus lutzae*. There are also the sand dunes, about 30 feet high, with the respective forests described by botanists, the battle-ground of sand, tides and trees: myrtaceae, araceae, araceae, cactacae, bromoliaceae, and near S. José, there seems to be a "*Myrtaceae*-Restinga" as explained by Bertha Lutz (in "Annotations of the Herbarium of the National Museum, mimeographed, 1936), with a predominance of trees of the *Myrta* and *Eugenia* genus. Ponta Negra presents a very different picture — it is protected from the winds by the Serra Negra mountains, where fishermer's shacks are placed under "balsam trees", in the shadow, and it also differs from the middle of the restinga, in the Lagoons Padre and Guaratiba, with several *Clusia* shrubs and bushes.

Whichever the vegetation type, it ends, in the inland portion of the lagoon beaches, in two manners: — 1) by a *Typhetum dominguensis* among several aquatic *Salvinia plants* (floating moss), *Azolla* (water-velvet), *Nymphaea* (water-lily), and Lemna (duckweed); 2) by a beach with gramineae, cyperaceae, *Acicarpha,* several *Chenopodium, Mollugo* up to the lagoon water with the common *Ruppia maritima* wigeon grass. This zone presents this aspect due to two motives: — 1) the new plant association results from the fact that it is a new portion of Maricá Lake, which appeared after it was emptied, since in former times the water mark stood 4 feet higher than it does today, Dec. 1954; the new water level resulted in this new beach — in the period from 1951 to the present day the shore was invaded by grass, gramineae, and cyperaceae. Other plants could not grow in this place due to the humidity in the surface level, caused by brackish water of salinity = S 8 1,000; 2) the vegetation stands about one or two palms above the ground, because goats, sheep, horses and cattle always graze there.

Ecologists who wish to study the trees rooted in the sand dunes of Maricá will have a very hard time, because big landscaping machinery, propelled by caterpillar chains, was used to build numerous streets and roads every 400 feet, dividing the land into lots belonging to a summer resort. The trees on the dunes are disappearing and houses and facilities for week-end purposes are being set up, the progress of a region formerly ridden by malaria and other diseases.

Between the lagoon and the sea there are several fresh water ponds, salinity = 0.07/1,000, chlorinity = 0,04/1,000 (to give a rough idea: 0,2% of sea water mixed into 99.8% distilled water). Here are situated the barrier beach, ponds.

Some of them are artificial, as, for instance, those fishermen dig and line with wooden boards. They are about 3 to 5 feet in depth and provide ample drinking water, of good quality. The following is the analysis of such water:

TABLE 7

Cacimbas water, (Station between Zacarias and the sea)
The 23 th Mai, 1953. (See fig. 6)

Color of water, in mg. per L., in Platinum	0.0
Cholorinity, Cl. g. per L	0.045
Salinity, total dissolved solids (oceanographic, g. per liter)	0.09
Dissolved inorganic solids	
Inorganic nitrogen compounds:	
Nitrates, mg. per L	0.0406
Nitrites, mg. per L	0.0
Amonea, mg. per L	0.0
Phosphorus (Ortho, PO') mg. per L	0.0
Calcium, Ca. mg. per L	0.8
Magnesium (Mg, mg. per L)	4.32
Sulfates Sulfates (SO', mg. per L)	14.76
Silicon (Sio', mg. per L)	3.0
Dissolved organic matter:	
Oxygen consumed, wet combustion, KMnO' into alkaline medium, mg. per L	2.0
ph	5.3
Total hardness (in CaCO')	20.0
Calcic hardnedd (in CaCO')	2.0
Magnesic hardness (in CaCO')	18.0

Barra and Bacopari Lagoons, in former times.

In 1950, when the lagoon had been closed but recently, we found living *Balanus amphitrite* in the stones. Off the western shore, there were plenty of macroscopic species of *Enteromorpha* and several filamentous algae (*Ulothricaceae* — not, however, the same species as in Maricá lagoon), among them an amphipod *Melita lagunae*. "Lixo de camarão", i.e. "filth, dirt of prawns"), as the fishermen call them, are these *Enteromorpha* algae, with their communities where prawns develop. This happened a long time ago, when the lagoon was filled with sea-water for 1 — 3 months after the mass of water had been trapped, retaining its salinity gradient for some time. Some places 1 to 2 palms deep present the muskgrass *Chara*; between *Chara* and the green gut-algae *Enteromorpha* several birds and crabs feed, as well as *Callinectes sapidus* blue-portunus-crab.

Today these lagoons (see Chemical data table) correspond roughly to 28% sea-water in fresh water, an alpha-mesohaline spectrum, which, with the rains, becomes an oligohaline spectrum.

Barra Lagoon

(10; 11 fig. 1; Laguna da Barra)

Depth: 1 — 2 palms deep next to the beaches, in the center up to 5 feet, at a point 220 yards off Rato Point (fig. 1), and even 6 to 9 feet. Aspect of the lagoon, March 29th, 1953: with the two rainfalls which occurred in March, its waters became a light greenish-bronze colour (CUC 217). Density 1.001 in Maricá Lagoon, but upon sailing into Bacopari the waters became a dark greenish-brown (CUC 315) and when we arrived at Barra Lagoon the colour was a surprising shade of green, somewhat like green apples, a natural effect resulting from the *Anabaena spiroides* mass production in the plancton. It was possible to see thousands and thousands of green-coloured grains in the water, without the aid of a microscope, the general colour resembling a tone commonly used to paint the walls of houses.

The Barra Lagoon plancton presents only *Anabaena spiroides,* whereas, on the same date, several diatomaceae were found in the other lagoons, such as *Nitzschia, Bacillaria, Pleurosigma, Navicula,* etc. Big, glutinous viscosity was found in Barra Lagoon. In a depth of 8 feet, at midday, the temperature of the water was 85°F (21°C), density 1.002; other spots of the lagoon presented an olive-green coloration (CUC 222), and where density was 1.003 the color changed to CUC 221. Numerous *Chamagmathus, Solen* and *Ruppia,* marginally.

On the southern beach, near a place called Ponta da Boiada (Cattle Point), a large surface was found covered with cattle excrement, extending all over Boiada Beach, the result being a large production of *Anabaena* plancton; the water is very rich in *Copepoda* eating the green *Anabaena* sirup. Chemical analysis resulted as follows: pH = 7.8; chlorinity 4.3; organic matter is ten times that found in the ocean at Ponta Negra.

The normal range of N — nitrates in sea water is 0.001 to 0.6 mg liter, here it is 4.1 mg 1. Salinity is 8.02/1,000 or about 12% sea water in 68 distilled water. At the lagoon entrance, 4.1 mg/1 of nitrates, in green water 2.2 mg/1, the difference of 1.9 mg/1 possibly being used by the phytoplancton. Leaving Barra Lagoon and arriving at Padre (Priest) Lagoon, the N — nitrates rose again to 4, the green sirup aspect disappearing. At Ponta to Rato (Rat Point), the water, due to the action of the wind, which gently stirs its surface, produces a small white scum, when the waves break at the shorelines. Along the foreshore, there is a three feet wide wet sand margin, where amphipod *Melita lagunae* and *Orchestia platensis* jump into the water, on several decaying *Ruppia*; the *Chamagnathus granulatus* is the predominant animal: The foreshore, 1 yard wide, is covered with common grass, growing on the slope corresponding to the "old time" high water marks, 4 feet above

the water level. In the shore, several milky white stones were found, with *Cirripedia sessilia,* dead *Balanus amphitrite* and dead *Solen* shells. The bottom is muddy in the middle, red earth near the red mountains and muddy sand. Seawards the bottom becomes firmer and more sandy. Where formerly was situated the mouth of the lagoon, "Emergência" (Fig. 1), there is now a sand bank never covered by the tide. At places such as Guaratiba, from time to time, occur quick-sand areas, movable and dangerous.

Padre Lagoon

Laguna do Padre (Lagoon of the Priest) owes its name to a priest who died in the Spanish influenza epidemic, around the year 1908.

The present lagoon maintains much the same aquatic regimen as that of former times, without suffering any important influence from either the sea at Gururapina or from Barra Lagoon. Formerly its level used to rise 4 feet due to rainfalls, but nowadays they do not cause any changes of level. The shores are now wider, and invaded by several Cyperales, Compositae, Gramineae, Rubiaceae.

In the water wigeon grass grows so closely together that it is impossible to pass through in a boat, in a maximum depth of 1 — 3 feet.

Hydrogen sulphide is diffused whenever a paddle or an oar touches and stirs the bottom mud. There are found some caymans, about 20 pounds in weight, dwelling in the vegetation island of *Typha* cattails and ferns. Colour of water was green (May 1953) CUC 208, with such a turbidity that sometimes the Secchi disc would disappear at a depth of 1 foot. *Typha* and *Acrostichum* surround the lagoon. Normally, Silica is 3 mg. L. in sea water, but this lagoon contains up to and much above 32 mg.L.

Plants collected were: Monocotyledoneae — Pandanales = Typaceae: *Typha dominguensis,* a cattail; Glumiflorae, Cyperaceae: several grasses *Cyperus* and *Kyllingia*. Also Graminaae, *Sacharum officcinarum* — common sugar, in farm plantations situated on the inner margin of the lagoon. Spathiflorae, Araceae — several species, among them *Tyllandria* epiphyt plants, and *Bromelia* sp. (Bromeliaceae: Farinosae), Commelinaceae: *Chorisandra* sp. Scitaminae — Musaceae: *Musa paradisiaca,* several banana-trees in the farms, situated in the lagoon inner margin. Dycotyledoneae — Myrtiflorae, herbs *Oenotheraceae* Umelliflorae — the parsley *Hydrocotyle leucocephala*; the gentian *Limnanthemum humbodtianum*; Tubiflorae — several Bignoniaceae: *Arrabidea conjugata,* and *Lundia cordata,* the solanaceae: *Brunfelsia maritima,* the madder plants Rubiales, Rubiaceae — *Borreria verticilata,* Campanulatae: a herb *Acicarpha spatulata* and the Compositae *Huchea quitex.*

The Mouth of the Lagoon System: Gururapina Canal.

Gururapina Canal was built by the Departamento Nacional de Obras e Saneamento = DNOS), and fulfills the finalities for which it was intended 100%: i.e. to dry the marshes and exterminate the very abundant mosquitoes and consequent tropical diseases occurring in these swampy regions.

Dr. Saturnino Braga, an engineer of the Department of Public Works, studied the project for the canal, based upon Vidigal Bar, situated near Niemeyer Avenue, in the city of Rio de Janeiro, which had been constructed by the late Dr. Saturnino de Brito, in a rocky littoral zone, and which was never obstructed by sands, as is a common occurrence in the Rodrigo de Freitas Canal, which is constantly invaded by sands, since its mouth opens into an arenous beach. Comparing Maricá and Santo Antonio del Chile (constructed by Engineer Dr. Jorge Lyra), he concluded that there was no choking danger. The canal was built through: — 1) a sand ground portion; 2) cattail and hammock swamps; 3) rocks, which had to be cut; 4) avoiding the 30 feet high sand dunes. He followed the techniques of the International Navigation Congress of Brussels, fixing the slope at 1:3 as was prudently advised, in accordance with the Yankee and Dutch engineering rules, comprising: a) pledgets right and left side walls of the canal; b) stone revestments; c) grass plantations in portions above 2.5 meters high and data comprised in Table 8:

TABLE 8

Length	1.500 meters (0.9 miles)
Coeficient A	1.11
Coeficient of Bazin	0.85
Base	12 meters (40 feet)
Discharge	45 m3 per second (59 cubic yards per second)

There was also projected a pier, to enter the sea, so that the canal should never be invaded by sand. Ponta Negra canal was excavated to attain the level zero in hydrographic standards, but the masonry pier was not erected, the projects for which are still in the Arq. Tec. n. 62 Dept. Nac. Obr. Saneamento.

The artificial water-way was constructed in S-shape, and is 0.93 mile long; a section of it, measuring 1,600 feet is straight and dug into Gururapina Lagoon, measuring 100 feet in width. A second section is

curved, convex to the sea, following a narrow passage parallel to the sea-shore (unfortunately it is nowadays so narrow that is measures no more than 13 feet in width, at the place where there is the Ponta Negra — Nilo Peçanha Bridge). The second portion is 3,200 feet long, built on earth and sand easily excavated by means of drag-lines. The third section is 800 feet long, constructed over granitic rocks, the rocks having been excavated to a depth of hydrographic zero.

New Hydrographic Regimen at Maricá

According to Eng. Dr. S. Braga, the water-volume calculated by Ponta Negra Canal, emptied into the sea every 24 hours, Maricá lagoon level recorded from the hydrographic standard Zero, is as follows:

TABLE 9

WATER LEVEL OF MARICA LAGOON (Above the Hydrographic zero)		DISCHARGE DURING 24 HOURS	
METER	Feet, Inches	m3	cubic yards
1 2m	3 ft. 11,	256,700	333,000
1 4m	4 7,	469,400	605,000
1 6m	5 3,	773,000	998,000
1 8	5 10,	1,340,000	1,740,000
2 0	6 7,	1,537,000	2,021,000
2 2	7 3,	2,754,000	3,550,000
2 4	7 10½,	3,505,000	4,504,000

Hidrobiological significance: if the lake level is below the 1.2 m level (3ft. 11 in.), it will dicharge 333,000 cubic yards (256,700 cubic meters) of water into the ocean; if a rainfall changes the level to 2.4 meters (7 ft. 10 1/2 in.), it will empty 4.540,000 cubic yards (3,505,000 cubic meters) into the ocean, at a rate of 41 cubic meters per second (59 cubic yards). If the water does not flow out of the lake, the 4.505,000 cubic yards of rain water shall dilute the brackish water, weakening the salinity gradient.

In the new regimen instituted according to Saturnino Braga, sea-water that enters when the tide is rising and brackish water that is emptied when the tide is ebbing, through Ponta Negra canal, with an average lake level 1,5 m, is the following:

TABLE 10

LEVEL OF THE LAKE (tide refered to hydrographic zero)		VOLUME GOING OUT TO THE SEA		VOLUME FROM SEA-WATER TO THE LAGOON	
METER	Feet, Inches	m3	cubic yards	m3	cubic yards
2 m	6 ft. 7,	159,000	208,000	—	—
1 9	6 ft. 3,	190,000	250,000	—	—
1 7	5 3,	206,000	270,000	—	—
1 6	5 3,	75,000	98,000	—	—
1 5	4 ft. 11 inches	(mean level of the lake)			
1 4	4 7,	—	—	72,000	94,000
1 3	4 3,	—	—	99,000	129,000
1 1	3 7,	—	—	117,000	154,000
1 0	3 3,	—	—	164,000	216,000
0 8	2 8,	—	—	178,000	234,000
TOTAL		630,000	825,000	630,000	825,000

S. Braga verified that, with the heavy rainfall of the 10th of February 1937, precipitation 67,2mm (26 inches), the water level only changed from 1.5 to 1.73m, and that with the worst conditions the lagoon would reach 1.9 m (6 feet, 3 inches), the month of January being the rainiest.

The diagram of the lagoon regimen was made based on the tide curves taken from the tidegraphs of the Navy observatory, installed in São João da Barra in Rio de Janeiro (two points near N./S. and Maricá).

Fig. 6A, according to S. Braga, and simplified by us, was drawn only to furnish the data used by hydrobiologists (the following translations are necessary: *nível* = level above hydrographic zero, in meters; *volume descarregado* = discharge every 24 hours; *chuva* = rains, expressed in millimeters; *alteamento* = rising of water level; *abaixamento* = lowering.)

As may be seen, a 3 mm rain will result in about 10,000,000 liters of fresh water being emptied into the lagoon, which raises its level by 0.3 m (1 foot). To empty the lagoon into the sea, for example, if the lagoon were at a 1.5 m level, it would then be 1.5 + 0.3 = 1.8 (or 5 feet 10 inches), the water flowing out according to the graphic and curves by S. Braga, fig. 6A.

Renewal of Sea Water.

Water renewal is of great interest to biologists; it takes place with every tide, with an exchange of 630,000 cubic meters (825,000 cubic yards) of water from lagoon to ocean, and vice-versa. For biologic purposes, let us determine the salinity values. The lake measuring round 40 square kilometers, 1 meter depth, this will result in a total of ..... 40,000,000 cubic meters, with a salinity S = 8/1,000; if the ocean furnishes sea water S = 37 1,000, their mixing will result S = 8.6 /1,000, and considering progressive concentrations, it was possible to make the following estimate:

TABLE 11

Calculation data:		
May	1st. Salinity, S =	8.6 per liter
	2nd	
	10th	13.1
	20th	19.2
	30th	24.6
June	1st	25.0
	10th	30.4
	20th	36.8
	21st	37

We can compute the salinity values by calculation, since Ponta Negra Canal perfoms and produces the water-way effects for which it was created: within 50 days, the salinity rate of the lake will be 371 per liter.

This, however, is not so simple, due to the streams, but the water regimen — from the biologic point of view, is maintained in good conditions. The "euchaline" and "polihaline" regimen remains unchanged (after Hedgepeth, euhaline = salinity 37, and S = 37 to 34 per liter), without desequilibrium resulting in fish-mortalities. The following are the results when dilutions caused by rain are taken into consideration:

May 1st ..... salinity, S = 8 per liter.
June 1st ..... " S = 25 and with rains — S = 23‰
June 21st ..... " S = 37 " " " — S = 34‰

There is a small alteration in the last salinity, reduced by 3 grams per liter (37 to 34), which is not expressive of biologic regimen modifications.

Also, according to the existing plan, the best salubrity and the best biologic regimen will be obtained, with 630,000 cubic meters of a good plancton received dailily from the sea.

Present Water Level at Maricá.

Nowadays the level changes at Maricá, during a short period of heavy rains, according to the surveys of Dr. Saturnino Braga, as presented in his plate, Mem. 62, are the following.

Without rains lake mean level is 1.5 m (59 1/32 inches) above hydrographic zero.

1st.	day	of	rains	.....	1.7m	.....	67	inches.
2nd.	"	"	"	.....	1.7	.....	67	"
3rd	"	"	"	.....	1.86	.....	74	"
4th	"	"	"	.....	1.86	.....	74	"
5th	"	"	"	.....	1.85	.....	73	"
6th	"	"	"	.....	1.85	.....	73	"
7th	"	"	"	.....	1.85	.....	73	"
8th	"	"	"	.....	1.84	.....	72	"
9th	"	"	"	.....	1.80	.....	71	"

That is, due to the heavy rainfalls, the lagoon level changed only during the 3 first days of the months, with 0.36 m (14 inches) water level elevation.

The highest level of the lagoon is 0.36 m + 1.5 m = 1.86 m.

Rain waters go out of the lagoon into the sea through Ponta Negra Canal. The reason why Maricá has no less than 1.5 m level is the fact that sand obstructions at Ponta Negra stand at the sea mean level, i.e. 1.5 m above the hydrographic zero.

Total amplitude at present = 0.36 m, in January 1955.

Cordeirinho Canal.

Fishermen at Maricá served a complaint to authorities, expressing their resentment of the fact that their lagoon did not receive sea-water, while Gururapina did. Sea-fish entered Gururapina by the recently opened Ponta Negra canal (1951-1952). The large cattail *Typhetum* existing in the Cordeirinho region impeded sea-water to reach Maricá, which thus remained separated, insulated from the sea. The luxuriant grass and cattail carpet in the Cordeirinho region, between Maricá and Gururapina, became stabilised and acted as a filter arresting plancton particles, prawns and fish. One palm thick and covering area of 2 square miles, this net consisted of a maze of interlinked *Typha, Acrostichum, Gramineae, Cyperaceae, Ruppia* and other aquatic plants, a natural sieve separating the coarser parts (fish for Gururapina) from the finer, i.e. only water getting to Maricá. At that time there was a competition between the people at Maricá and those at Gururapina, in which Gururapina always got the best, since the fish stayed in that

lagoon, never reaching Maricá. Moreover, they had obtained a permission from the Offices to fish in the ocean also, so that they had two sources of income: gains proceeding from the ocean-fish, and from the lagoon-fish. The rights disputed by the Maricá people were that Gururapina fishermen threwnets across the canal, catching the fish without any efforts, while the Maricá people had not a single fish in spite of their refrigeration chamber, capacity 5 tons daily, which remained entirely useless. Several requests were received by the authorities in the State of Rio and in the Public Federal Offices, all on the same lines.

To solve this difficulty, it was determined that sea-water should arrive in Maricá in adequate supplies of salt-water, provided by a well-planned canal between Gururapina and Padre Lagoons.

The Cordeirinho Canal was thus projected by Dr. L. Sampaio, of the DNOS, according to Table 12:

TABLE 12

Trapezoidal slope		L/1
Base	b	80 meter. (262 feet)
Base	B	88 meter. (288 ft.)
Heigh	Hm	1.7 m (67 inches)
Heigh	Hi	1.4. (55 inches)
Declivity	Is	0.000129
Declivity	Li	..000000
Discharge	Q	71.05 m3 per second (54 cubic yards)
Length		2.300 meters. (1.4 st. miles)

The canal is 1.4 miles long, 262 feet wide, 6 feet deep, with a capacity of 335,000 cubic yards (255,780 cubic meters) of water, per hour. Arriving from Gururapina into Padre Lagoon and from there to Maricá, this water-way is always open, and with each tide the passage develops a capacity of 1,500,000 cubic meters (1,965,000 cubic yards), a capacity higher than that of Ponta Negra Canal.

Thus, the 630,000 cubic meters (825,000 cubic yards) of sea water entering through Ponta Negra can easily be drained into Maricá.

With the Cordeirinho Canal in full operation and working efficiently, the authorities of the DNOS that had already solved their first problem, i.e. the sanitary problem, are now regulating that of biologic productivity (Cordeirinho Canal is at present in construction, 1 mile being already completed — Dec. 1954).

On the cutting margin of Gururupina Lagoon, at a place some 200 yards from the rocks, there is a stractum, consisting of a bed of black peat, 4 feet higher than the present level of Gururapina lagoon (n. 3, 4, 5, fig. 16). The rocky portion is shown in fig. 17: n. 3 — high tide

level, n. 4, the bottom. During the ebb tide, its waters do not flow into the sea, or they drain very slowly, sometimes drugget coloured (CUC 336), sometimes rust coloured, with a rather low salinity. The results of its chemical analysis are in Table 6. Fig. 6 is a profile. Near the lighthouse (Farol de Ponta Negra), salinity of ocean is 36/1,000, while 200 yards into the canal one finds a 4 1,00 salinity. The lagoons *Acrosthicetum, Typhetum*, the former level (see ANTIGO) and the present level (see ATUAL), did not change its fresh-water aspect, in spite of the new channel, as had already been observed before with Padre Lagoon. Now and then, there are found in the canal frames of crabs *Callinectes sapidus, C. danae, C. acutidens,* blue crabs and several mollusca, killed by the bad-quality water (the same animals as OLIVEIRA has written about, found in Piratininga, in Mem. Inst. Osw. Cruz, 1949). The only fish capable of penetrating through this very shallow entrance are those which swim at the surface, as *Brevoortia tyrannus,* which occur in large quantities and are not caught by fishermen, since they are nowadays useless to the Brazilian fish market. The prawns *Penaeideae* do not enter the lagoons. There is an increase in several animals which prefer fresh water, for example — the *Percidae*: *Oxylabrax undecimalis* "robalo", several *Cyprinodontidae,* several species of lagoon-mullets "paratís" *Mugil* sp.; "acarás" *Geophagus* sp.; "mama-reis" fish — *Menidia* sp., several four-barb fish at the bottom: *Siluroideae,* and the caymans, amphibia, ophidia, etc.

These animals, though already inhabiliting the almost fresh water portions of the lagoon system in former times, did not then predominate; nowadays, however, their number is constantly increasing.

In the new margins, there were found, on March 30th, 1951, i.e., after drainage: Monocotyledoneae — Glumimiflorae: *Stenotaphrum* sp.; Centrospermae: *Chenopodium* sp.; Azoiaceae: *Mollugo verticilata*; Parietales — Violaceae, *Hybanthus* sp.; a "Maltese cross"' plant: Myrtiflorae, Oenotheraceae, *Jussieuia* sp.; Contortae: the gentian *Limnanthemnum humboldtianum*; Tubiflorae; several borrages of the *Borraginaceae family;* and the mints *Hyptis* sp., Labiatae fam., several *Rubiaceae*.

Near the rivers, Doce and Bananal, one finds the water velvet: *Azolla* sp., the duckweed *Lemna* sp., the hyacinths *Eichhornia crassipes.*

The variations in fauna and flora composition of Modern Maricá Lake seem to be great from year to year; just now, there is in formation a new biota, because the physical, chemical, and biological conditions are now quite different from those predominating in the "Old-Lagoon" Period.

The Problem of the Prawns.

From the time when Ponta Negra Canal was opened to the present date, 1951, no prawns of the genus *Penaeus* entered the lagoon. There is a tradition among fishermen, transmitted from generation to genera-

tion, that "prawns do not penetrate the lagoons through stone bars, traversing only through sandy ones; also, it is necessary that the entrances be in the same direction as the obliqueness of waves and sand beach deposits".

In Maricá, this obliqueness is SW to NE, exactly at the point where there are the Ponta Negra rocks. The DNOS engineers have promised to look into this matter and dynamite the rocks. Should thereby prawns enter the lagoon, the tradition will be confirmed, and the biologic behaviour of *Penaeus* along the Brazilian coast will be established; if not, this tradition will be proved false. This experiment will involve no financial losses for the DNOS, since the granite represents valuable material.

In former times, when there were prawns to be found in the lagoon, they used to sell 5 trucks full of them a day (30 tons), most of which were resold in Rio de Janeiro, and some in Niteroi and other localities. In our days, 1954, it is possible to see the people of Maricá buying cans of preserved prawns, the present being the critical point of the crisis for Maricá fisheries (1952-1954).

Present Crisis.

The fish-failure at Maricá began in 1951 and continues until our days. While waiting for new life in the lake, by means of redredging and engineering works, fishermen are passing a serious crisis. Some of the people who still insist in trying to fish, catch only some one palm long silurid — fish (cat-fish) and acará-fish after a whole night's labour, these being fish-qualities sold at rather low prices in the market. It is only old fishermen who continue fishing, since the younger population changed their professions, in order to provide for their families. The acará and cat-fish are of fresh-water component; living in an oligohaline lagoon with salinity $S = 0.08\%$, it is estimated that they will be extinguished within 2 to 3 years (until 1957).

The fisheries disappearing from Marcá, the whole life of the town will change. At present (Jan. 1955), Ponta Negra Canal does no more exist, the winds having originated sand dunes which entirely obstruct the canal, and it is only when there occurs a rainfall that lagoon water gets to sea. Very rarely, equinoxium and sizigia tides drive a few mullets into Gururapina Lagoon. About one mile of Cordeirinho Canal has been dredged, the other half remains to be done.

Another bad situation was that created by the owner of the sand dunes, who judicially requested the removal of the 800 families of fishermen who live there, in order to demolish the shacks and sell the land in lots of 20 by 30 yards, for a sum of Cr$ 80,000,00 (at around Cr$ 800,000 an acre). The proprietor has already provided urbanism facilities and built avenues lined with palm-trees in the dunes; a yachting-club is being constructed in the leeward side, and it is possible that

the water will be polluted with the oil, grease, and petrol of the motors of launches. In Dec. 1954 there still to be found marginal stracta from which prawns and fish feed: *Cladophora, Ulothricaceae, Enteromorpha,* with the copepods, ostracods, amphipods, and plancton.

A sewage is being installed in the northern section of the town, which is not supposed to disturb the waters; however, with the passing of time, rules will become less strict and the control of the superintendence office will slacken, so that it is quite possible that this too will contribute to the pollution of the waters.

Consequently, if all this occurs, in a few years' time, there will be created in Maricá the same situation to be found today at Lagoa Rodrigo de Freitas (in Rio de Janeiro), with its salinity desequilibrium, pollution, petrol, hydrogen sulphide, and a yearly mortality of 80 tons of fish early, due to upwelling waters in the first cold day after a sequence of warmer days.

Protection of the Aquatic Nature.

This is an aspect to which sufficient attention is not given, not only in Brazil but also in other countries. Let us see what Thienemann, head of the Limnological International Association, wrote about German waters: "a biologist should work with the hydraulic engineers, to ensure continuity of good biological productivity, and to avoid polluted and dirty waters due to sewage substances from the factories, fouling up the waters". As an example, it suffices to recall what happened in the Santa Lucia Estuary, in the Zululand Coast, which once possessed a rich fauna of fish and prawns, and which recently became deteriorated due to man's interference, as can be read in Day, Millard Broekhuysen.

To supply polihaline lagoons, a renewal of 630,000 cubic meters of sea-water a day are sufficient and adequate, as per project plans by Dr. Saturnino Braga, for the Ponta Negra Canal.

Nowadays, however, this sea-water does not reach the lagoon, since its entrance is obstructed by sand. It is our opinion, that the engineering works were operated to be efficacious also with respect to sea-water, fish and prawns access.

There exists a never failing rule: "when the century old hydrobiological regimen of a lake or lagoon is broken, its waters will never biologically return to their form re status. The water regimen may recover, improving, or it may go from bad to worse, but it will never again be equal to what it formerly was. We know that communities, populations, associations and the ecologic natural *sera* with its zonations do not appear from one day to the other, nor in a week's time.

If the lagoon should get to the point where it will lose its "prawn-weeds" (*Potamogetonaceae, Ulothricaceae, Cladophoraceae* and *Enteromorpha* algae), with its bioma of copepods, amphipods, ostracods, hexa-

pods, and the full extent of little animals and plancton, formerly used to feed prawns and fish, it is quite certain that these communities will not renew themselves easily.

At present, December 1954, the hydrobiologic regimen is not entirely broken yet, only a part of its cycle being interrupted: the lagoon is in an oligohaline stagnancy status, to be followed by a short desequilibrium in the salt concentration, later on by a polyhaline period, as described by Oliveira for the Piratininga Lagoon.

The 3 years (1951-54) during which the lagoon was abondoned, were not sufficient to destroy the marginal strata formations, there still being found an exuberance of *Ruppia, Chara, Enteromorpha, Myriophillum, Ulothrix, Cladophora,* and the plancton is very rich in *Bacillaria, Navicula, Pleurosigma, Rhopalodia, Anabaena,* etc. If prawns and fish return to the lagoon, they will find the same biocenosis of 1951 and the sea plancton will furnish an abundance of valuable food for the fish.

Let us not permit that the lagoon loose the communities that provide food for two or three thousand tons of fish yearly! Let us respect the sources from which the food originates! The high level marks of the waters are without significance regarding the productivity, since in old times production was effected with the low marks, i.e., the same level observed today.

It is only necessary that sea-water bearing fish be admitted into the lagoon, the remaining conditions being the same as in 1951. It is only required:

1) That sand that obstructs Ponta Negra and the canal be removed;
2) That Cordeirinho Canal aperture be opened;
3) That stones which hinder the entrance of prawns be dynamited;
4) That the discarding of motor-boat petrol into the lagoon water be controlled;
5) That fecal pollutions be impeded;
6) That industrial sewage be controlled;
7) That nets be placed at the mouth of the lagoon, to avoid that fish return to see after entering the lagoon;
8) That net-funnels be put at the entrance of each lagoon, so as to distribute the fish equally;
9) That, if Ponta Negra Mouth obstructs frequently, the pier projected by Dr. Saturnino Braga be constructed; or the sand that obstructs Emergencia bar be removed.
10) That, if the biologic productivity returns, a permanent hydrobiologic laboratory for the study of prawns and fish be installed.

We express our hope that the lagoons regains their productivity, maintaining the new urbanisms and some good fisheries, without the former malaria!

Aero-Photo n.º 1

Aero Topographic Photography: about 1/20,000 natural scale. 1. — Bar lagoon; 2. — Atlantic Ocean; 3. — the mixing of lagoon and ocean waters. 4. — Bacopari land vegetations; 5. — Emergencias Sand Beach. 6. — The sand on the south of the Bar Lagoon, the Guaratiba Beach. (With the permissions and licenses of the Hydrography and Navegation Directory of the Navy of Brazil, that photopraph is issue publication)

FIGURE 1. — This map is made after several charts: based upon the Municipal Chart, the low water marks; and upon the Hydrographic Directory the high marks of the margins; the latitude as the longitude was taked from the Navegation Charts, and other informations from the geological map of Alberto Lamego. The scale for the plate is about 1/180,000 sufficient quite for our explaining purposes. The more interesting stations of observations are labelled 1 — 16. LEGENDA: 1. — (cheia) — high marks of the margins; 2. — (vazia) — low marks of the margins; 3 (areia) sand; 4 (rocha) rocks.

FIGURE 2. — Depth in meter, Marica Lagoon; 1/58,000 scale. One read the portuguese comma equall to the english full point; Example: 0,1 meter (brasilian) = 0.1 meter (english).

FIGURE 3 — Map; the larger aquatic plants rooted in the bottom, horizontal zonation, the beds of *Ruppia, Chara,* etc. Topographic scale 1/14,300.

FIGURE 4. — Map and profile showing the Morriao Mountain, of red earth and several colored stripes: white, yellow, red and violet. It is represented the aquatic zonation: *Ruppia,* etc and the beach plants: *Portulaca, graminaceae* etc.

FIGURE 5. — Map and profile of the Capim Point. In old time Itaipuassu Canal was full of sea water, nowadays it is a field *grammatum*. Brejo Capim is full of fresh water, with *Typha* etc.

FIGURE 6A. — After Dr. Braga.

FIGURE 8. — The Aracatiba street in old time.

FIGURE 9. — Photograph take on the Boqueirao Mountain.

FIGURE 10. — FRIGORIFICO pier, 1. — the level of the lagoon in 1.2 m 2. — Fisheries Colony and Fish School; 3. — the Frigorific; the left window is of the laboratory room, where we are, during these observation, by favour of the Dr. Domingos Abbes, of the Agricultura Secretary of State of Rio. 4. — Aracatiba street; 5. — beach; 6. — *Ruppia* bed.

FIGURE 11. — 1: Cajoo Mountais; 2: Padre Point, whose margins are provided with fresh-water plants; 3: the Cordeirinho (little lamb) canal, is the mouth to Gururapina; 4: a working table; 5: the sport motor boat, used by us in Marica.

FIGURE 12: the Cordeirinho *Typhetum* and *Acrostichetum* are habited by several caymans; 2: behind the mountain is Gururapina; 3, 4, 5: little sand islands appeared when the lagoon was in the low water marks.

FIGURE 13. — The Falso Pão de Açucar (also it is called by the indian name: Itaipuassu); 2. — south restinga, Padre lagoon 3: restinga vegetation; 4: Inoan mountain; 5: Padre lagoon; 6: Macacos Mountain; 7: the grass of restinga; 8: several *Bromeliaceae*.

FIGURE 14. — After sanitaried, modern Marica. 1: Mombuca margins dried; 2: the frigorific, which produces daily five tons of ice, for storing fishes. 3: the *Ruppia* grass submerged, and the pondweeds *Potamogenaceae*, as is shown in map fig. 3.

FIGURE 15. — Natural zonation in Gururapina shores, where the wet margins of "antique Lagoon" arrived. 2: the new dried margins. 3: first vegetation, several grass captures the area, as the pioneer stage. 4: a "cacimba" made by two children, that of left is with her feet into drinkable fresh water.

FIGURE 16. — the excavation made by Departamento Nacional de Obras e Saneamento; 1. — Jacoonai mountains; 3, 4, 5: black stractum pest appearence, and black. 6: the cut that is made in sandy earthy.

FIGURE 17. — 1, 2: the oppenned rock, at Ponta Negra. 3: the common high water; 4: common low water, in low tide; 6-7: the water from lagoon to ocean (the moment is ebb tide, untill the time of commom low water, wait during 3 hours).

FIGURE 18. — The nowadays regime in Ponta Negra: we see: *Perimetro molhado* is the wet perimeter; section im sp. meters; *Raio hidraulico* is the mean hydraulic radius; *Declividade* is the declivity, *Velocidade media*, is mean water speed; *descarga* is discharge in m^3 per sec. *Volume descarregado* is discharge total volume in thousands of m^3; *Cota hidrografica* is by taking Hydrographic Zero, and *curva de maré viva* is the highest spring tide curve. By the use of the Torricelli Hydraulics Abacus for calculations.

Sôbre a lei da concentração das lagunas e sua aplicação no caso da Lagôa Rodrigo de Freitas*

por

Lejeune de Oliveira

(com 2 figuras)

Os regimes das lagunas litorâneas podem ser computados por vários modos, mas escolhe-se o critério de mais rápida verificação, que é o das salinidades. Os vários regimes hidrobiológicos podem ser definidos por limites de teores salinos, assim se subdividindo em regime oligo, meso, poli e meta-halinos. Naturalmente, num regime hidrobiológico, não se pode considerar somente a salinidade, mas leva-se em conta todo o conjunto das condições físicas (geográficas, temperatura, densidade, transparencia, etc...), químicas (entre elas o pH, salinidade, clorinidade, etc.) e biológicas (os sêres do plancton, do bentos, do necton, do neuston...) Delimitado um regime, os sêres que o povoam habitam equilibradamente e sem mortandades. Para cada local ha uma certa faixa de salinidade que define regime (por exemplo, para o Golfo do Mexico, segundo Hegpeth o regime mesohalino vai de 10 até 18.5 por mil de salinidade — acima de 18.5 por mil de salinidade ha desequilibrio e mortandades para os sêres mesohalinos, por hipertomia, e abaixo de 10 por mil, o mesmo por hipotonia.) Infelizmente, entre nós, os estudos nem sequer estão começados para delimitar as tolerancias salinas dos sêres de nosso litoral. Não se poderá dizer que o nosso regime mesohalino será de 10 a 18 por mil, porque as espécies de sêres vivos são diversas, e as condições das aguas são outras.

Para manter uma laguna equilibrada biologicamente ha necessidade de gradua-la dentro de uma certa faixa de salinidade, por renovamentos periódicos de agua do mar, que trarão e manterão todo o conjunto dos elementos peculiares ao regime para o qual a laguna foi equilibrada.

---

* Trabalho dedicado ao Prof. Dr. Henrique Aragão.

Com a finalidade de simplificar os calculos dos renovamentos, e não demorar muitissimo contando aritmeticamente um por um dos renovamentos até chegar ao desejado, como comumente se lê na literatura hidrobiológica, vou demonstrar um teorema, baseado na célebre fórmula das combinações, $C^n = C^{n-1}_{n-1} + C^n_{n-1}$, de Pascal. Muitos autores hidrobiologistas embaraçam os dados das dosagens feitas nas aguas, fazem uma média empírica de uma salinidade média, que oscila dentro de largos limites, e os multiplicam por coeficientes empíricos vários: pluviométricos, de evaporação, de infiltração, de difusão, de estratificação etc...

Ora, se conhecermos uma regra que nos dê a concentração salina ideal, não empírica, considerando os líquidos perfeitos, e considerando as lagunas puras e impermeaveis, teremos a concentração teórica, e a salinidade teórica exata de tal lagôa. Aí então, é que deveremos adaptar, e procurar por tentativas, os vários coeficientes, para corrigirem uma salinidade não empírica, o que forçadamente produzirá coeficientes menos empíricos.

As minhas cogitações sobre tal assunto, no retiro das noites silenciosas e ermas da Estação de Hidrobiologia da Ilha do Pinheiro, levaram a propôr o seguinte teorema, que traduz as condições necessárias, e derivadas da própria natureza das coisas, que obedecem obrigatoriamente a regras fixas e inalteraveis, se a laguna se concentrar por regime de renovamentos uniformes. Assim sendo, o que enuncio em tal teorema, é a propria lei que rege o fenomeno. Passo a apresenta-la:

LEI DAS CONCENTRAÇÕES DAS LAGUNAS, EM REGIME DE RENOVAMENTOS SUCESSIVAMENTE UNIFORMES.

NOVA LEI. — A salinidade de uma laguna, concentrada por n *renovamentos uniformes, é a soma algébrica da série alternada de* n *frações, cujos denominadores são os índices de renovação elevados ás potencias em ordem crescente desde 1 até* n *e cujos numeradores são os coeficientes do quadro de Pascal multiplicados pela salinidade da agua renovadora.*

DEMONSTRAÇÃO. — Seja S a salinidade de uma agua do mar que entre em uma laguna. Sejam Z as salinidades da laguna, assim distribuidas:

Z_0 ..... salinidade inicial da laguna.
Z_1 ..... salinidade no fim do 1.º periodo de renovamento.
Z_2 ..... salinidade no fim do 2.º periodo de renovamento.
.....
Z_n ..... salinidade no fim de n periodos de renovamento.

Seja a fração 1/R o volume da lagôa que seja renovado uniformemente por agua do mar (por exemplo, seja 1/12 do volume da lagôa

que sai para o mar, e 1 12, idênticamente, o que entra do mar para a lagôa, chamamos, neste caso, R = 12; chamamos R de *"indice renovador."*

No início pode haver uma certa salinidade (que é no início somada aos renovamentos). Seja, por hipotese, a salinidade inicial ZERO, ou $Z_0 = 0$.

Ora, no fim do 1.º período de renovamento (seja em T horas, durante a cheia das marés, por exemplo), saiu da lagôa para o mar, e depois entrou do mar para a lagôa, o volume 1/R desta lagôa, donde, a salinidade no fim deste 1.º período só poderá ser, com efeito:

$$Z_1 = S/R \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (a)$$

Considerando os líquidos perfeitos, totalmente misciveis, a lagôa pura e de fundo impermeavel, e sem intervenção de condições estranhas: chuva, evaporação, etc..., como sempre é uso considerar, na demonstração dos teoremas da hidráulica.

No inicio do 2.º período o que sairá para o mar, é uma vez multiplicada por S R, porque o que fica na lagôa são os outros R-1 volumes. Chamemos o residual que fica na lagôa pela letra *f*, e para cada período de renovamento, chamemos de f_0, f_1, f_2 ..... f_n, do modo que fizemos para as salinidades da lagôa.

Com efeito, o que ficará neste periodo será então:

$$f_2 = Z_1 \ (R - 1) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad ((b)$$

porque todas as partes que foram misturadas com as da lagôa, a única que sai é o mesmo VOLUME UM que entra, donde: R-1. Depois da agua sair, e levar a parte salobra da lagôa para o oceano, entra a agua do mar pura, haverá então neste período a renovação, que será naturalmente:

$$Z_2 = \frac{S + f_2}{R}$$

substituindo f_2 pelo seu valor em (b), teremos:

$$Z_2 = \frac{S + [Z_1 \ (R - 1)]}{R}$$

tirando o valor de Z_1 da equação (a) obteremos:

$$Z_2 = \frac{S + \frac{S}{R} \ (R - 1)}{R}$$

que finalmente, reduzida a sua forma mais simples dará:

$$Z_2 = \frac{2S}{R} - \frac{S}{R^2} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (c)$$

Para os períodos seguintes o raciocínio repete-se igualmente, será, então: Ao iniciar o 3.º período sairá para o mar o mesmo volume 1/R, e o que ficará na lagôa será anàlogamente:

$$f_3 = Z_2 \ (R - 1)$$

e isto acrescentado no renovo da água do mar dará:

$$Z_3 = \frac{S + Z_2 \ (R - 1)}{R} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (d)$$

do mesmo modo, substituindo os valores de Z_2 nesta equação (d) e simplificando-a, teremos a salinidade da lagôa no fim do 3.º período:

$$Z_3 = \frac{3S}{R} - \frac{3S}{R^2} + \frac{S}{R^3} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (d)$$

Seguindo raciocínio idêntico para os 4.º, 5.º períodos, e assim até o *n* período teremos:
para o 4.º período:

$$Z_4 = \frac{4S}{R} - \frac{6S}{R^2} + \frac{4S}{R^3} - \frac{S}{R^4} \quad \ldots\ldots\ldots (e)$$

e para o 5.º período:

$$Z_5 = \frac{5S}{R} - \frac{10S}{R^2} + \frac{10S}{R^3} - \frac{5S}{R^4} + \frac{S}{R^5} \quad \ldots (f)$$

e assim por diante.

Nota-se então a lei de formação dos numeradores, estes são os coeficientes das potências sucessivas de um binômio, que obedecessem necessariamente ao quadro de Pascal, do qual foi eliminado a 1.ª série dos numeros 1; ei-lo:

1								
2	1							
3	3	1						
4	6	4	1					
5	10	10	5	1				
6	15	20	15	6	1			
7	21	35	35	21	7	1		
8	28	56	70	56	28	8	1	
9	36	84	126	126	84	36	9	1

Observando os denominadores vê-se que as potencias dos índices de renovação são respectivamente:

$$R^1 \ R^2 \ R^3 \ R^4 \ R^5 \ R^6 \ R^7 \ R^8 \ R^9 \ \ldots\ldots\ldots \ R^n$$

Uma vez tendo estas equações, elas são suficientes para calcular os renovamentos de qualquer laguna, quando a mesma seguir regime uniforme.

Cada período de renovação, cada salinidade, encontra-se na pirâmide das concentrações sucessivas que damos abaixo:

$$Z_0 = 0$$

$$Z_1 = \frac{S}{R}$$

$$Z_2 = \frac{2S}{R} - \frac{S}{R^2}$$

$$Z_3 = \frac{3S}{R} - \frac{3S}{R^2} + \frac{S}{R^3}$$

$$Z_4 = \frac{4S}{R} - \frac{6S}{R^2} + \frac{4S}{R^3} - \frac{S}{R^4}$$

$$Z_5 = \frac{5S}{R} - \frac{10S}{R^2} + \frac{10S}{R^3} - \frac{5S}{R^4} + \frac{S}{R^5}$$

$$Z_6 = \frac{6S}{R} - \frac{15S}{R^2} + \frac{20S}{R^3} - \frac{15S}{R^4} + \frac{6S}{R^5} - \frac{S}{R^6}$$

. . . . . .

E assim por diante, o raciocínio que precede generaliza-se até ao período n, estando enunciada e demonstrada a lei.

SITUAÇÃO DA LAGÔA RODRIGO DE FREITAS

Lembremos que os estudos de Saturnino de Brito, de 1916-1922, cogitavam de fazer da Rodrigo de Freitas uma lagôa salgada, mas sem atender a qual grau de salinidade fosse o suficiente. Mas mesmo sem cogitar deste tópico, Saturnino de Brito calculou e projetou, as obras de engenharia foram executadas para que houvesse um renovamento diário de 12.5%. Notemos que este renovamento era ótimo, e foi calculado num tempo em que ainda não se conheciam os regime meso-oligo-, poli- halinos, frutos de investigação da escola holandeza, que foram publicados após os trabalhos de Saturnino de Brito, em revistas especializadas de biologia marinha e de pesca.

Nas obras da Lagôa Rodrigo de Freitas, concluidas em 1922, quando o vertedor funcionava a plena vazão, a lagôa descarregava para o mar 1 000 000 m³ de agua salobra, e entrava 1 000 000 m³ de agua pura, com cerca de 37 por mil de salinidade, diariamente (Digamos, na pior das hipoteses, com agua do mar a 36 por mil de salinidade.) Como o volume total da lagôa era de 8 000 000 m³, resultava um renovamento diário de 1/8, ou, seja: 12.5%.

ANTIGO RENOVAMENTO DA LAGÔA RODRIGO DE FREITAS

Aplicando as equações expostas atrás, avaliemos qual a concentração salina que teria tido a lagôa Rodrigo de Freitas, se ela começasse no 1.º dia de renovamento com salinidade ZERO (Isto é a pior das hipoteses possiveis, e que nunca poderá ocorrer).

A Lagôa renovava o 1/8 de seu volume, donde R = 8. Cada período de renovamento era então de um dia; a salinidade da agua do mar é S = 36. O período de grandes renovamentos é de cerca de 5 dias, pois são os 5 dias de marés vivas.

Segundo a equação (f) temos a salinidade ao fim do 5.º dia:

$$Z_5 = \frac{5S}{R} - \frac{10S}{R^2} + \frac{10S}{R^3} - \frac{5S}{R^4} + \frac{S}{R^5}$$

substituindo S e R pelos seus valores teremos:

$$Z_5 = \frac{5 \times 36}{8} - \frac{10 \times 36}{8^2} + \frac{10 \times 36}{8^3} - \frac{5 \times 36}{8^4} + \frac{36}{8^5}$$

cujos resultados podem ser obtidos conforme se segue:

SALINIDADE DA LAGÔA RODRIGO DE FREITAS
No 5.º dia de renovamento, regime de 1922

Disposição das operações

log 5 = 0.6989700 (I) + log 36 = 1.5563025 (I) 2.2552725 (III)	
— log 8 = 0.903099 1.3521826	1.ª parcela + 22.5
log 360 = 2.5563025 (IIII) 2 × log 5 = 1.8061799 0.7501226	2.ª parcela — 0.5625
log 36 × 10 = (IIII) — 3 log 8 = 2.7092699 1.8470326	3.ª parcela + 0.0703
log 5 + log 36 (III) — 4 log 8 = 3.6123596 — 2.6429129	4.ª parcela — 0.0439
log 36 (II) — 5 log 8 = 4.5154495 — 3.0408536	5.ª parcela + 0.001098

Somando as parcelas algèbricamente, pois acham-se em série alternada, teremos: + 22.5 — 0.5625 + 0.0703 — 0.0439 + 0.001008 = = 16.902

RESULTADO = Salinidade: 16.9 gramas de sais por mil, ao fim do 5.º dia de renovamento.

Reparemos que estes 5 dias foram os dias do mês de Março, por época de sizígia de lua cheia, quando as marés eram vivas, e aí então a laguna saia do *regime doce* e passava para o *regime polihalino* com 16.9 gramas por mil de sal. A lagôa ficava muito pouco tempo naquela concentração de 10 a 14 por mil de salinidade, em que se davam os desenvolvimentos máximos das *Microspira desulfuricans* e de outros anaeróbios, que foram verificados por KLEREKOPER, nesta lagôa e no seu relatório de 1938, eram uma das produtoras de gases sulfídricos, e causadoras das mortandades; evitando o *regime salobro* nestas concentrações, evitar-se-á uma das causas de mortandades de peixes.

Depois dos 5 dias de marés vivas, seguem-se os outros dias com marés baixas, e com menor renovamento de agua, até que venha a próxima lua nova, com as novas marés vivas. Em média, as marés mortas atingem em cada dia, as cotas de 1.2 m, 1.1 m, 1.0 m, 0.9 m, 0.8 m, 0.7 m até ao 6.º dia, depois voltando outra vez a 0.7 m, 0.8 m, 0.9 m ....., o que dá em média, para uma avaliação rápida, nestes dias, uma altura de 0.9 m no canal da Lagôa Rodrigo de Freitas; assim sendo, nestas marés mortas ainda havia um desnivel de 0.10 m a 0.20 m.

Veja no diagrama fig. 2 o nivel da lagôa, no fim do período era 0.9 m, a maré indo até 1.1 e 1.2 ainda poderá dar um desnivel de 0.20 m, o que irá aumentar a salinidade de cerca de uns 7 por mil, e na lua nova mais uns 11 por mil, quando a lagôa chegava nos seus 32 por mil de salinidade.

Donde concluimos que os renovamentos de 1/8 feitos por Saturnino de Brito, eram ótimos para manutenção da lagôa em regime salino.

SITUAÇÃO ATUAL DA LAGÔA

Estes renovamentos se passaram, infelizmente, somente na lagôa antiga, regime de 1922. Hoje a lagôa está diferente. Houve alterações geográficas, assoreamentos, perca de superfície, percas de carga devido ás ilhas, diminuição de profundidade, diminuição de volume.

Cuido neste trabalho apenas uns dados que posso apresentar baseado em fontes seguras, e trabalho de investigação pessoal minha, fora das investigações em equipe da Estação de Hidrobiologia que trabalhou durante 3 meses na lagôa, e cujos relatórios (ainda não impressos) foram entregues ás Diretorias do Instituto Oswaldo Cruz e do Departamento de Veterinária da Prefeitura.

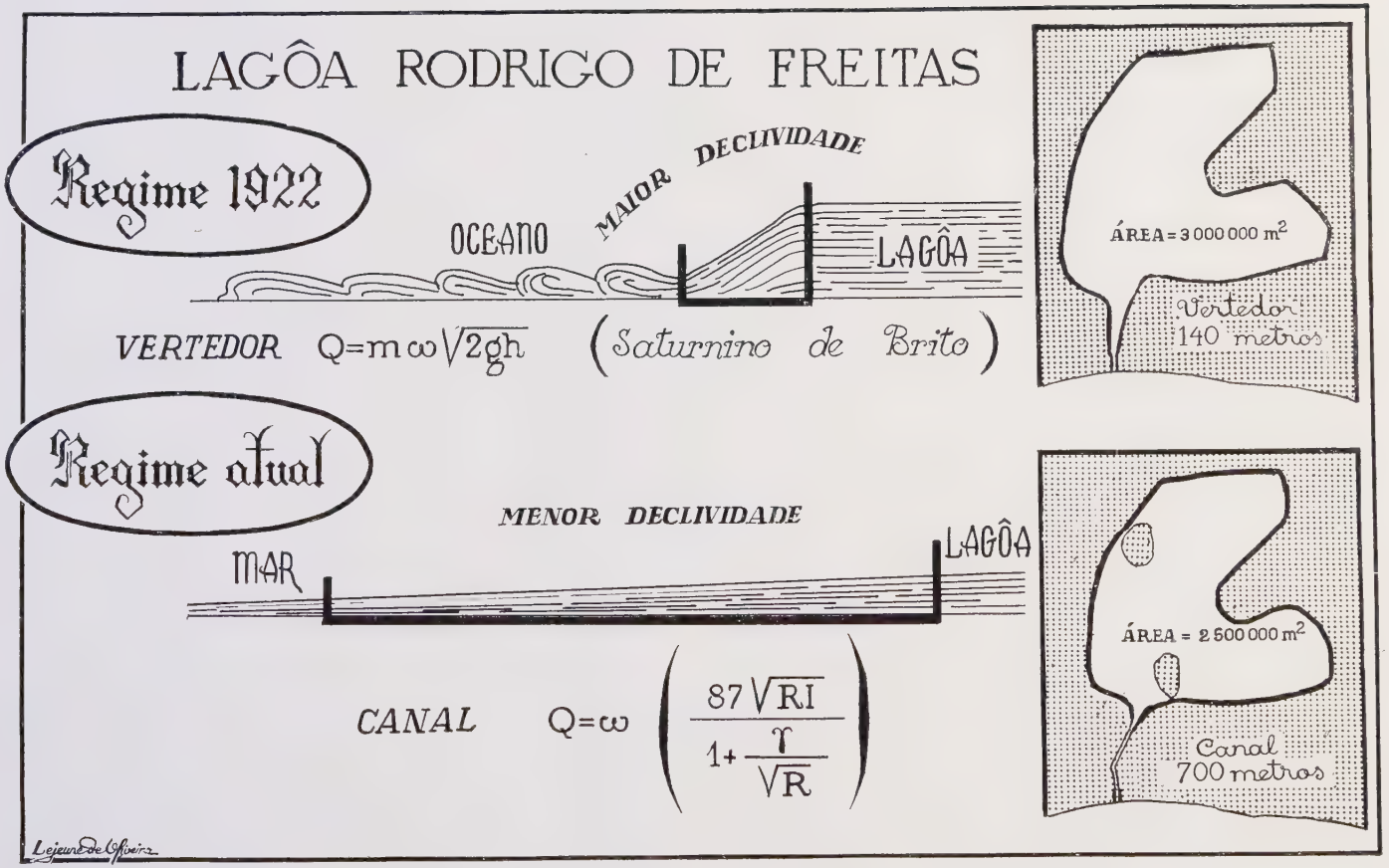

LAGÔA RODRIGO DE FREITAS
Regime 1922
MAIOR DECLIVIDADE
OCEANO
LAGÔA
VERTEDOR Q=mω√2gh (Saturnino de Brito)
ÁREA = 3 000 000 m²
Vertedor
140 metros
Regime atual
MENOR DECLIVIDADE
MAR
LAGÔA
CANAL Q=ω (87√RI / (1+γ/√R))
ÁREA = 2 500 000 m²
Canal
700 metros
Lejeune de Oliveira

Fig. 1

As fontes de informação para este trabalho foram apenas duas: 1/ os relatórios, projetos e estudos de Saturnino de Brito, e 2/ a atual planta da Lagôa levantada pelo Serviço de Topografia do Departamento de Obras da Prefeitura, mapa 12 4-0 B.

Comparemos a lagôa em 1922 e atualmente:

EM 1922	ATUALMENTE EM 1955
Um vertedor, construído por Saturnino de Brito, para o centenário, curto, de 140 metros de comprimento, que ia até à ponte da Av. Delfim Moreira.	Um canal, fino e comprido, com cêrca de 700 metros, que passa pelo local onde aterraram e colocaram o Jardim de Alá.
Um canal interseptor, que desaguava próximo ao Joquei Clube	O canal interseptor vaza mais dificilmente : a ilha do Piraquê constitui obstáculo à circulação.
As águas podiam sair mais livremente, não havia a Ilha dos Caiçaras servindo de obstáculo.	As águas perdem carga, ao contornarem a ilha dos Caiçaras, que fica quase na entrada do canal.
A superfície era de cêrca de 3000 000 m1	A superfície da lagoa hoje não vai a mais de 2 500 000 m2, sendo 1/3 de sua antiga superfície perdida com aterros.
Volume era, segundo S. Brito (para a profundidade média 2.7 m) = 8 000 000 m3	Hoje, se imaginarmos que seja ainda esta a profundidade média, teremos volume 2.7 × 2 500 000 m2 = 6 750 000 m3
Declividades tais que permitiam a força da água, ao abrir a comporta limpar todas as areias em frente ao vertedor.	Declividade fraca, mudança para regime de canal com descragas menores.

No presente trabalho vamos falar do fator declividade, e como diminuiram as descargas. No tempo de 1922, um desnível de 0.20 em 140 metros dava uma declividade de 0.002, hoje, em um canal de 700 metros, o mesmo desnivel só vai dar uma declividade de 0.00028, que não produz velocidade suficiente á agua para vazar na proporção de renovar 1/8 do volume da lagôa, diariamente. Outro fator que influe na declividade é o menor volume da lagôa, pois devido a este ha relativamente um abaixamento maior; o abaixamento maior produz um desnivel menor, o que não dá declividade suficiente.

O regime antigo que foi estabelecido artificialmente por Saturnino de Brito, respondia pela formula dos vertedores, em que só se conta a diferença das alturas da lagôa e do oceano, e a descarga Q, função da raiz quadrada da gravidade.

$Q = m\ W \sqrt{2\ g\ H}$, e, foi por esta formula que pela primeira vez foi calculado um regime de lagôa entre nós, como podemos acompanhar nos § 81 em diante da obra de Saturnino de Brito.

Hoje, pelo que qualquer um vê no local, encontra-se um simples canal comum, de aguas muito paradas, que deverá seguir, como naturalmente segue todo o canal, as formulas de escoamento de Bazin, ou de Guanguillet e Kutter, como a clássica:

$$Q = W \left(\frac{87 \sqrt{RI}}{1 + \frac{y}{\sqrt{R}}} \right)$$

formula em que entram em conta uma série de coeficientes de forças e atritos que dificultam a agua de jorrar com mais velocidade (fig. 1) embora possam ter mesmo desnivel.

Vamos repetir os mesmos calculos feitos por Saturnino de Brito, o que não constitui novidade, mas alterando os fatores DECLIVIDADE, assim poderemos comparar os dois resultados: o regime da lagôa original, de Saturnino de Brito de 1922, e o atual regime, resultado de modificações profundas no aspecto físico desta lagôa.

Saturnino de Brito começou seu cálculo no § 87, dizendo: ..... "... suponhamos agora uma curva de maré viva, cujo preamar máximo atinja a cota de 0.70 m acima do nivel médio, ou seja 1.40 m acima do fundo do canal....." Veja: a curva que foi figurada na nossa figura 2. Saturnino de Brito avaliava as descargas tomando períodos de uma hora, notando na curva de maré qual o desnivel neste período, e achou para o primeiro período, entre 2 e 3 horas, o desnivel 1.40 m — 1.20 m = 0.20 m (veja fig. 2).

Ora, como era 140 metros a extensão do vertedor, a declividade inicial superficial era de I = 0.20 divididos por 140 = 0.0014, mas havia a declividade do fundo para o qual foi construido o vertedor, que era de 0.0005, estas duas somadas, deram a declividade média = $= I_m = 0.002$, e assim por diante, conforme deve ser acompanhado na sua obra clássica sobre a lagôa, para que se fique ao par do que estamos expondo.

Apresentamos o quadro que segue, com os calculos que nós fizemos, tendo sido alterados as declividades. Tudo mostra que estes resultados devam ser aproximados dos que se encontram atualmente no canal. Naturalmente, todo calculo feito no escritório necessita de uma verificação in-loco, com os aparelhos e recursos instrumentais da hidráulica.

A nossa figura 1 focaliza as diferenças dos dois regimes, o antigo e o moderno, tendo ao lado dois pequenos mapas da lagôa em que se faz sentir a diferença de área principalmente na região do canal. A nossa figura 2 é outra representação simplificada das figuras 3 e 4 das estampas VI de Saturnino de Brito, onde acrescentamos o regime atual da lagôa, e o nivel atual para objetivar tais diferenças. Os dados de "atual nivel" e de "Regime atual" foram os do quadro de calculos que vem a seguir:

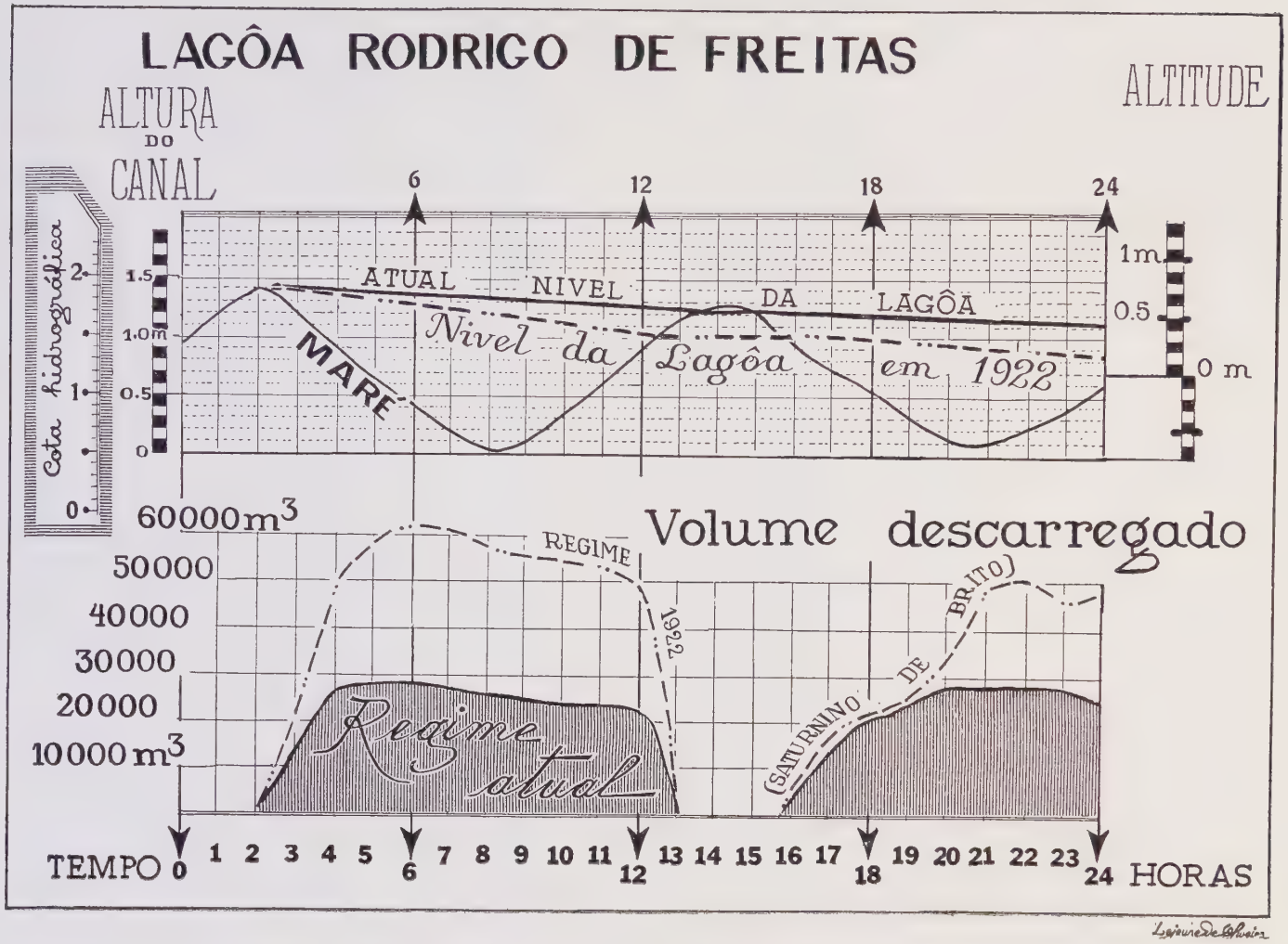
QUADRO DE CÁLCULO

(Feito para o regime atual da lagôa Rodrigo de Freitas, usando as descargas calculadas por Saturnino de Brito, no seu diagrama 2, Est. VI em 1922)

PERÍODO N.º No período de . horax até horax	1.º 2- 3 horax	2.º 3—4 horas	3.º 4— 5 horas	4.º 5 6 horas	5.º 6- 7 horas	6.º 7- 8 horas	7.º 8 - 9 horas	8.º 9 10 horas	9.º 10— 11 horas	10.º 11 12 horas	11.º 12— 13 horas
A altura inicial (h) da lagoa foi de	1.4	1.35m	1.339m	1 327m	1 316m	1 305m	1 295m	1 285m	1 276m	1 367m	1 258m
A altura final, f, da maré foi de ..	1 20m	0 90m	0 62m	0 60 m	0.60 m	0 60 m	0 60 m	0 60 m	0 60 m	0 60 m	0 60 m
Donde, o desnível. D = h — f =	0.20m	0.45m	0.719m	0.727m	0 716m	0.705m	0 695m	0 685m	0 676 n	0 667m	0 658m
A declividade superficial, Is = D/700 metros	0.00028	0.00640	0.00102	0.00104	0.0010	0.001	0.001	0.00098	0 00095	0.00095	0.0009
Somada com a declividade do fundo do canal, grede.....	0.005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0 0005	0.0005	0.0005	0 0005	0.0005
dará, declividade média I = Io + Io = I = Io + 0.0005.....	0.00078	0.00114	0.00152	0.00154	0.0015	0.0015	0.0015	0.00q48	0.00145	0.00145	0.0014
Altura média molhada Nºº = h — ½ D = ...	1.30m	1.255m	0.98m	0.96m	0.958	0.952	0.947	0.940	0.938	0.933	0.89
Para esta altura molha. e pelo feitio do canal teremos o perímetro molhado **X**..	10.54m	10.370m	9.94m	9.88	9.86	9.85	9.82	9.80	9.79	9.78	9.6
Teremos a seção **W**.....	10.54m	9.696m'	7.22m'	7 04m'	7.02m'	6.95 m'	6.86 m'	6.84 m'	6.78	6.78	6.41
Donde, o raio hidráulico médio R = Z	1	0.93	0.72	0.72	0.71	0.70	0.70	0.69	0.69	0.68	0.67
Para êste raio hidráulico, e esta seção a descarga (calculada por Saturnino de Brito) foi de, Q = ...	7 m'/seg	7.5 m'/seg	8 m'/seg	7.5 m'/seg	7.4 m'/seg	7 m'seg/	7 m'/seg	6.2 m'/seg	6 2 m'/s	6.1 m'/seg	6 0 m'/seg
Volume parcial descarregado **Wp** = ½ Q. 3 600 = ...	12 600m'	13 500m'	14 400	13 500	12 600	1w 600	11 160	11 160	11 160	10 980	10 800
Volume neste período, Wp = ½ volume do período anterior mais a me ade do volume do presente...	—	16 100m'	27 900 m'	27 900m'	16 820m'	25 920m'	23 760m'	22 320m'	22 320m'	22 140m'	21 780m
O abaixamento da lagoa, será então de a = W bacia hidráulica, sendo atualmente W/2 500 000 = ...	0.0504	0.0104	0.01116	0.011	0.011	0.010	0 0095	0 0088	0.0088	0.0088	0.0086
Nível no fim do período, N = a — h	1.35 m	1.339	1.327	1.316 m	1.305 m	1 295 m	1.285 m	1 276 m	1.267	1 258	1 249
Volume total descarregado até êste período.....	12 600m'	38 700m'	66 600m'	94 500m'	121 320m'	147 240m'	171 1000m'	193 320m'	215 640'	237 780m'	259 560m'

Comparemos os resultados, nas duas marés, e em cada período de um dia:

REGIME 1922 (Dados de Saturnino de Brito)		(Calculos feitos levando em conta o canal ter 700 metros, donde as declividades menores)
Na primeira maré		
HORAS		
2 — 3	22 000 m³	12 000 m³
3 — 4	50 760	26 100
4 — 5	59 940	27 900
5 — 6	62 280	27 900
6 — 7	61 000	26 820
7 — 8	57 000	25 920
8 — 9	55 080	23 760
9 — 10	54 500	22 320
10 — 11	53 500	22 320
11 — 12	49 820	22 140
12 — 13	45 100	21 780
TOTAL	**571 500 m³**	**259 560 m³**
Na segunda maré		
HORAS		
15 — 16	55 000 m³	3 015 m³
16 — 17	17 000	16 695
17 — 18	21 000	27 360
18 — 19	25 000	27 360
19 — 20	34 000	27 360
20 — 21	48 000	27 360
21 — 22	50 000	27 360
22 — 23	46 000	26 820
23 — 24	46 000	26 000
24 em diante	138 000	10 000
TOTAL	**430 000 m³**	**216 230 m³**
Total no período de um dia:		
Renovamento diário:	1 001 500 m	475 790 m³


LAGÔA RODRIGO DE FREITAS
ALTURA DO CANAL
ALTITUDE
Cota hidrográfica
6
12
18
24
ATUAL NIVEL DA LAGÔA
Nivel da Lagôa em 1922
MARE
1m.
0.5
0 m
60000m3
50000
40000
30000
20000
10000 m3
Volume descarregado
REGIME
1922
Regime atual
(SATURNINO DE BRITO)
TEMPO 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 HORAS

Afinal, o renovamento da lagôa que era de 1 000 000 m³ diariamente em 1922, caiu hoje, em 1955, á metade, cerca de 500 000 m³, e assim mesmo, quando hoje as comportas podem ficar abertas. Cremos que este máximo atual de 500 000 m³ de renovamento diário raramente será atingido hoje, raras vezes vemos o canal aberto por uns 5 dias, e mesmo que estivesse aberto o renovamento de 1/14 do volume da lagôa é insuficiente para manter regime hidrobiológico equilibrado permanentemente.

Todas as razões são unanimes, nesta questão da lagôa, e indicam que as condições das aguas melhorariam muito, se a lagôa pudesse outra vez ter um renovamento de 1/8 do seu volume diariamente, conforme foi executado por Saturnino de Brîto.

Qualquer que fosse a obra de engenharia não importaria, o que necessita a lagôa são 12.5% de seu volume renovado diariamente,.

BIBLIOGRAFIA — IMPRESSA

Aragão, H. & al.
1939 Relatório sobre a situação da Lagôa Rodrigo de Freitas sob o ponto de vista biológico.
Mem. Instituto Osw. Cruz, *34* (4) : 457-463, 8 est.

Saturnino de Brito
1922 Saneamento da Lagôa Rodrigo de Freitas. Obras Completas, vol. 15. Instituto Nacional do Livro; Rio de Janeiro.

BIBLIOGRAFIA — MANUSCRITOS

Kleerekoper, H.
1938 "Relatório sobre a Lagôa Rodrigo de Freitas" datilografado, apresentado pelo Dr. Ascanio Faria, ao Exmo. Sr. Mario Cabral, Secretário da Agricultura da P. D. F., em Março de 1953.
O datilografado está no Serviço de Caça e Pesca e copia está na P.D.F. Secret. Agric., onde consultamos.

MAPA 12 O-B:
Lagôa Rodrigo de Freitas, 1955:
Departamento de Obras, Prefeitura do Distrito Federal. 1 copia em papel ferro-prussiato.

Autofecundação e fecundação cruzada em Australorbis glabratus*

por

W. Lobato Paraense

A autofecundação em caramujos da ordem Pulmonata parece ter sido assinalada pela primeira vez por Oken (1817) na *Lymnaea auricularia*. Na sua excelente monografia sôbre o assunto, Larambergue (1939) fornece uma lista das espécies nas quais êsse fenômeno foi observado. Com referência à família Planorbidae, verificações indiscutíveis de autofecundação, em indivíduos isolados precocemente de modo a evitar a cópula com outro indivíduo, foram feitas nas seguintes espécies: *Planorbis exacutis* e *P. parvus* (Colton 1918), *P. metidjensis* (Brumpt 1928), *P. corneus* (Allen 1935), *Indoplanorbis exustus* (Brumpt 1936), *P. boissyi* (Larambergue 1939) e *Australorbis glabratus* (Brumpt 1941). Êsses autores foram os primeiros a observar a autofecundação nas espécies referidas.

No presente trabalho apresentamos um resumo de nossas observações sôbre a autofecundação e a fecundação cruzada na espécie neotropical *Australorbis glabratus*.

OBSERVAÇÕES SÔBRE A AUTOFECUNDAÇÃO

Nesta investigação usamos sete caramujos criados em isolamento a partir de uma placa de ovos de espécime capturado no campo em Belo Horizonte (Estado de Minas Gerais). Ao completarem cêrca de um mês de idade e achando-se com 8 a 10 mm de diâmetro, depositaram as primeiras placas de ovos, que continham de 1 a 9 cápsulas. No período entre a eclosão e o início das posturas a temperatura ambiente variou de 19,5 a 26° C. A freqüência das posturas foi irregular e o número de ovos produzidos durante os primeiros 30 dias variou de 199 a 589 por espécime, perfazendo o total de 2734. Dêstes ovos, 2141 (78,3%) evoluiram até a eclosão, e os restantes foram inviáveis.

---

* Trabalho realizado mediante cooperação entre o Instituto Oswaldo Cruz e o Serviço Especial de Saude Pública, e entregue para publicação a 21 de Março de 1955.

Durante êste último período de 30 dias a temperatura ambiente variou de 19 a 24º C.

Em 29 espécimes observados ulteriormente a produção de ovos começou quando os caramujos contavam de 51 a 123 dias de idade e mediam de 6,5 a 7,5 mm de diâmetro.

OBSERVAÇÕES SÔBRE O MODO HABITUAL DE REPRODUÇÃO

Como nas condições naturais os planorbídeos vivem em agregados coloniais, sendo encontrados freqüentemente indivíduos em cópula, procuramos investigar qual o modo habitual de reprodução do *A. glabratus* nas referidas condições.

Nos trabalhos de Crabb (1927a, b) sôbre a *Lymnaea stagnalis* e de Larambergue (1939) sôbre o *Bulinus contortus* encontramos pontos de vista opostos a respeito da importância relativa dos processos de autofecundação e de fecundação cruzada na reprodução dos pulmonados.

Na opinião de Crabb a fecundação cruzada não seria o modo normal de reprodução na *L. stagnalis*. Julga êle que os espermatozóides são incapazes de atravessar as substâncias viscosas excretadas nos canais genitais femininos pelas glândulas formadoras do albúmen, da membrana do ôvo e da massa gelatinosa, de modo que não alcançariam o óvulo antes de ser êste recoberto pelo albúmen. Entretanto, a própria existência de um aparelho copulador dotado de órgãos acessórios bastaria para invalidar essa opinião. Por outro lado devemos admitir a ocorrência, em uma mesma espécie animal, de uma adaptação estrita entre os seus espermatozóides e os meios mais ou menos viscosos a serem atravessados por êles ao longo dos canais genitais femininos. Uma disposição semelhante é encontrada nas aves, cujos espermatozóides, avançando através dos materiais secretados pelas glândulas da casca, das membranas e do albúmen, atingem os óvulos no segmento superior do oviduto.

A opinião de Larambergue, baseada em suas experiências com o *B. contortus*, é de que, apesar de se encontrarem normalmente reunidos num mesmo indivíduo os elementos dos dois sexos, os espermatozóides estranhos introduzidos durante a cópula podem atingir os ovócitos antes que êstes sejam fecundados pelos espermatozóides do próprio animal (p. 185).

Como veremos em seguida, os resultados de nossas observações com o *A. glabratus* estão de acôrdo com a conclusão de Larambergue.

Utilização de caramujos albinos nesta experiência

Nesta pesquisa sôbre o modo habitual de reprodução do *A. glabratus* utilizamos caramujos albinos nas experiências de cruzamento, exercendo aqui o albinismo a função de marcador genético para distinguir os espécimes produzidos por cruzamento daqueles produzidos por autofecundação. A fim de tornar mais compreensíveis estas observações com

albinos, apresentamos breve resumo de alguns resultados de experiências preparatórias.

O albinismo total nos planorbídeos é determinado por um gene recessivo, muito raro em relação ao seu alelo normal. Tratando-se de um fator recessivo, um caramujo albino será necessàriamente homozigoto, e portanto produzirá exclusivamente albinos por autofecundação. Em nossas experiências, os primeiros 300 ovos depositados por três albinos criados isoladamente deram a seguinte descendência:

Albino 1: 284 albinos, 16 inviáveis.
Albino 2: 252 albinos, 48 inviáveis.
Albino 3: 250 albinos, 50 inviáveis.

Sendo o albinismo determinado pela ação de um par de alelos recessivos, qualquer caramujo pigmentado aparecido na descendência de um albino corresponde a um heterozigoto, cuja pigmentação decorre da dominância do alelo normal. Por conseguinte, ao reproduzir-se por autofecundação um dêstes heterozigotos comportar-se-á como se fôsse uma casal de heterozigotos reproduzindo-se por cruzamento. Dêsse modo, nos seus descendentes imediatos ocorrerá a segregação dos fatores dominantes e recessivos. Como exemplo do fenômeno de segregação mendeliana apresentamos os resultados da reprodução por autofecundação de três heterozigotos:

Híbrido 1:	616	pigmentados,	183	albinos,	118	inviáveis	(3,36 : 1).
Híbrido 2:	658	pigmentados,	243	albinos,	101	inviáveis	(2,71 : 1).
Híbrido 3:	706	pigmentados,	252	albinos,	65	inviáveis	(2,80 : 1).
	1980	pigmentados,	678	albinos,	284	inviáveis	(2,92 : 1).

Os números entre parênteses correspondem às proporções mendelianas entre pigmentados e albinos, que ficaram em tôrno da proporção teórica de 3 : 1 observada nos casos de monohibridismo.

Experiências de cruzamento

De posse dos dados sôbre o comportamento genético do fator de albinismo, ficamos em condições de esclarecer o modo normal de reprodução do *A. glabratus,* se por autofecundação ou por fecundação cruzada. O método de investigação é muito simples. Coloca-se um espécime albino junto com um pigmentado homozigoto, ambos de tamanho aproximadamente igual. Como a freqüência das desovas é muito maior durante a noite, êles são separados antes do anoitecer e novamente reunidos pela manhã. Assim podemos identificar as posturas de cada um, que são conservadas em pequenas placas de Petri com água e observadas ao microscópio estereoscópico. Para a finalidade dêste trabalho

tôda a atenção é dada aos ovos do espécime albino, visto como os ovos do espécime pigmentado produzem exclusivamente embriões pigmentados. No caso de serem pigmentados, os embriões deixam ver nìtidamente, em tôrno do 6.º dia à temperatura de cêrca de 22º C, um ponto negro na base de cada antena, correspondendo às manchas oculares, não apresentando mancha alguma no caso de serem albinos. O aparecimento precoce das manchas oculares nos embriões ainda dentro das cápsulas permite grande economia de tempo na obtenção dos resultados das provas de cruzamento. Na descendência de um caramujo albino os embriões pigmentados derivam de cruzamento, ao passo que os embriões albinos derivam de autofecundação.

Quando são reunidos dois espécimes muito jovens, que ainda não iniciaram as posturas, os primeiros ovos do albino podem dar embriões pigmentados ou albinos, dependendo de ter ou não o espécime pigmentado atingido a maturidade sexual.

Quando são reunidos dois indivíduos que se acham em pleno período de reprodução por autofecundação, as primeiras placas de ovos depositadas pelo espécime albino em seguida ao acasalamento podem dar exclusivamente embriões pigmentados, traduzindo a utilização preferencial imediata dos espermatozóides estranhos. Na maioria dos casos, entretanto, aparecem alguns embriões pigmentados entre grande maioria de albinos, porém o número dos primeiros aumenta ràpidamente nas posturas seguintes, as quais em pouco tempo só contêm embriões pigmentados. É óbvio que o aparecimento simultâneo de embriões albinos e pigmentados em uma placa de ovos indica que ela encerra uma mistura de produtos de autofecundação e de cruzamento.

As experiências de cruzamento aqui referidas demonstram o fato notável de que o *A. glabratus*, apto a reproduzir-se prontamente por autofecundação, passa a reproduzir-se exclusivamente por cruzamento quando reunido a outro indivíduo da mesma espécie. A fecundação cruzada continua a realizar-se com exclusividade enquanto os indivíduos permanecem reunidos, como verificamos em 10 casais até agora estudados.

Modo de reprodução nas condições naturais

Para demonstrarmos se nas condições naturais a reprodução por cruzamento é preferencial, como foi verificado no laboratório, observamos a descendência de 10 albinos capturados no campo, na cidade de Santa Luzia, situada a cêrca de 30 Km ao norte de Belo Horizonte. Todos os espécimes deram origem a produtos pigmentados, resultantes da fecundação de seus óvulos, no habitat natural, por espermatozóides de caramujos pigmentados homozigotos.

Esta breve referência é suficiente para demonstrar que a fecundação cruzada constitui o modo natural de reprodução do *A. glabratus*.

Duração da atividade fecundante dos espermatozóides estranhos

Os espermatozóides introduzidos durante a cópula no canal genital de um caramujo são armazenados em algum ponto, conservando durante um prazo variável a sua capacidade fecundante. Êste fato é demonstrado pela observação dos descendentes imediatos de um albino separado de seu par pigmentado, os quais apresentam-se pigmentados enquanto subsistem espermatozóides estranhos no progenitor albino.

Em nossas observações sôbre êste assunto utilizamos os espécimes referidos no tópico "Experiências de cruzamento", sendo os albinos separados depois de terem estado acasalados durante 22 a 56 dias. Os caramujos observados para verificação do "Modo de reprodução nas condições naturais" foram também usados nesta investigação. Verificamos ser de 25 dias após a separação o prazo mínimo para o aparecimento do primeiro embrião albino indicador do comêço da autofecundação. Depois de aparecer o primeiro albino as posturas subseqüentes apresentaram albinos em número sempre crescente, até o desaparecimento, mais ou menos rápido, dos embriões pigmentados. O prazo máximo requerido para o desaparecimento dos embriões pigmentados foi de 68 dias, que corresponde, portanto, ao máximo de sobrevivência dos espermatozóides estranhos verificado em nosso material.

COMENTÁRIOS

Um único espécime de *A. glabratus* é capaz de produzir por autofecundação uma colônia de numerosos indivíduos. Como vimos, o menos prolífero entre os nossos espécimes autofecundados começou a desovar aos 30 dias de idade, produzindo ao fim de mais 30 dias 199 ovos, dos quais 180 foram viáveis. Supondo que no 30.º dia de idade cada um dos seus descendentes atingisse a maturidade sexual e que cada um dêles puzesse o mesmo número mínimo de 180 ovos viáveis em 30 dias, distribuidos da maneira registrada em nossos protocolos para o espécime inicial, ao completar êste último 120 dias de idade ou 90 dias de postura teria produzido cêrca de 11.500.000 descendentes viáveis, sem contar os milhões de indivíduos produzidos por êle e por seus descendentes após o 30.º dia de postura. O efeito supressivo da resistência ambiental, controlando a efetuação do potencial biótico, não permitirá naturalmente tal superprodução de indivíduos. Podemos concluir, com base nestes dados, que nos criadouros tratados com planorbicidas bastará um único espécime sobrevivente para renovar a população de caramujos.

Foi visto como, apesar da alta capacidade de autofecundação do *A. glabratus,* êle revelou absoluta preferência pela reprodução por cruzamento. Devemos daí concluir que as suas colonias (como também com tôda probabilidade as dos outros planorbídeos) constituem populações mendelianas, no sentido de comunidades reprodutivas de indivíduos que participam de um "pool" genético comum (Dobzhansky 1950). Esta preferência dada à hibridação intra-específica permanece

difícil de explicar. Nos planorbídeos os óvulos e espermatozóides são formados lado a lado nas paredes epiteliais dos mesmos divertículos do ovoteste, em cuja luz são lançados em conjunto, migrando juntos pelas mesmas vias hermafroditas. Esta disposição parece apropriada para aumentar as probabilidades de autofecundação. De fato, os mesmos gametas que num caramujo isolado conjugam-se prontamente, tornam-se mùtuamente indiferentes logo que em presença de espermatozóides de outro indivíduo da mesma espécie, os quais passam a ter absoluta primazia como elementos fecundantes. O significado evolucionário dêste fato merece ser realçado. Garante a espécie dessa maneira a sua própria preservação, mediante o fluxo de genes e as recombinações que lhe conferirão a necessária provisão de variabilidade gênica.

Em regiões expostas a enxurradas não é raro que muitas populações de planorbídeos sejam quase inteiramente aniquiladas na estação chuvosa de cada ano, e muitas vêzes ainda ocorre um segundo ciclo de destruição na estação fria ou durante a sêca, de acôrdo com as regiões. Em certas áreas é mesmo impossível encontrar-se um planorbídeo nas épocas referidas. A reconstituição das populações nesses casos é feita à custa dos poucos indivíduos sobreviventes, que representam o elo entre as populações precedente e subseqüente. Êstes poucos indivíduos, nos quais se concentram todos os atributos que constituirão a estrutura genotípica da nova população, devem ser considerados como a "população genèticamente efetiva". Se acontecer que êles sejam portadores de caracteres hereditários atípicos, êstes últimos podem predominar na nova população, que os herdará mediante mero acaso. Como resultado dêste fenômeno de oscilação genética os indivíduos de uma colônia podem diferir de tal modo dos de outra colônia ainda que próxima, ao ponto de poderem ser considerados como pertencentes a espécies diferentes. A oscilação genética opera de preferência em populações que se fragmentam em pequenas subpopulações ou colônias isoladas cuja grandeza está sujeita a fortes depressões em certas estações do ano, como é o caso dos planorbídeos.

Não devem constituir exceção os casos extremos de reconstrução de colônias a partir de um único indivíduo residual, ou de organização de nova colônia a partir de um indivíduo extraviado pelas correntes de água. Um dêstes indivíduos poderá fundar pequena colônia inicial por autofecundação, prosseguindo a multiplicação dos seus descendentes por cruzamento. Êste fato explicaria a ocorrência de algumas colônias com características próprias e pequena variação individual.

Terminando estas considerações, desejamos realçar a utilidade do emprêgo de um método tão simples de marcação genética, por meio do fator de albinismo, na experimentação genética aplicada à sistemática. Segundo um conceito genético, as espécies são "grupos de populações entre os quais a permuta de genes é limitada ou impedida na natureza por um mecanismo ou por uma combinação de vários mecanismos de isolamento reprodutivo" (Dobzhansky 1953, p. 262). Em conseqüência desta definição, a caracterização biológica de uma espécie (bio-espécie) deve basear-se no seu nível de isolamento reprodutivo.

Nos planorbídeos, entretanto, a ocorrência da autofecundação poderá falsear a interpretação das provas de cruzamento. O emprêgo de espécimes albinos nestas provas permitirá afirmar com segurança a ocorrência ou não de hibridação interespecífica e conhecer o número de híbridos eventualmente produzidos.

SUMÁRIO

Um espécime de *A. glabratus* criado isoladamente é capaz de reproduzir-se perfeitamente bem por autofecundação. Entretanto, quando em companhia de outro indivíduo da mesma espécie, reproduz-se exclusivamente por cruzamento.

A possibilidade da formação de uma população a partir de um único indivíduo permite explicar a ocorrência de certas colônias de planorbídeos com características peculiares e pequena variação individual, além de explicar a reconstituição de populações tratadas com planorbicidas, desde que um único indivíduo possa escapar à destruição.

Utilizando o fator de albinismo como marcador genético em experiências de cruzamento, torna-se fácil distinguir na geração F_1 os produtos resultantes de fecundação cruzada daqueles produzidos por autofecundação.

O emprêgo de espécimes albinos na experimentação genética aplicada à sistemática permitirá uma caracterização biológica segura das espécies, reforçando assim o critério morfológico.

REFERÊNCIAS

Allen, C.
1935. Self-fertilization. *J. Conchology* 20 : 126 (cit. por Larambergue).

Brumpt, E.
1928. Étude de l'autofécondation du mollusque aquatique pulmoné, *Bullinus contortus*. *C.r.Acad.Sci.*, Paris, 186 (15) : 1012-1015.

Brumpt, E.
1936. *Schistosoma mansoni* et *Schistosoma bovis* ne sont pas transmis par *Planorbis* (*Indoplanorbis*) *exustus*. Observations biologiques concernant ce Planorbe (autofécondation, érosion de la coquille, élevage, etc.). *Ann.Parasit.* 14 (5) : 464-471.

Brumpt, E.
1941. Observations biologiques diverses concernant *Planorbis* (*Australorbis*) *glabratus* hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*. *Ann.Parasit.* 18 (1-3) : 9-45.

Colton, H. S.
1918. Self-fertilization in the air-breathing pond snails. *Biol.Bull.* 35 (1) : 48-49.

Crabb, E. D.
1927a. Anatomy and function of the reproductive system in the snail, *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biol.Bull.* 53 (2) : 55-56.

Crabb, E. D.
1927b. The fertilization process in the snail, *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biol.Bull.* 53 (2) : 67-108.

DOBZHANSKY, T.
1950. Mendelian populations and their evolution. *Amer. Nat.* 84 (819) : 401-418.

DOBZHANSKY, T.
1953. Genetics and the origin of species. 3rd rev. ed., Columbia Univ. Press, New York.

LARAMBERGUE, M. de
1939. Étude de l'autofécondation chez les gastéropodes pulmonés. Recherches sur l'aphallie et la fécondation chez *Bullinus* (*Isidora*) *contortus* Michaud. *Bull. Biol.* 73 (1-2) : 19-231.

OKEN, L.
1817. Schneckenjung ohne Begattung. *Isis*, p. 319 (cit. por Larambergue).

Self and cross-fertilization in Australorbis glabratus*

by

W. Lobato Paraense

The occurrence of self-fertilization among snails of the order Pulmonata has been recorded in the literature since so early as 1817, when it was observed by Oken in *Lymnaea auricularia*. In his excellent monograph on the subject, Larambergue (1939) gives a list of the species in which the phenomenon was observed. As regards the family Planorbidae, the undeniable records of self-fertilization, in specimens isolated so early as to prevent copulation with another individual, refer to the following species: *Planorbis exacutis* and *P. parvus* (Colton 1918), *P. metidjensis* (Brumpt 1928), *P. corneus* (Allen 1935), *Indoplanorbis exustus* (Brumpt 1936), *P. boissyi* (Larambergue 1939), and *Australorbis glabratus* (Brumpt 1941). These authors were the first ones to observe self-fertilization in the respective species.

The present paper summarizes our observations on self- and cross-fertilization on the neotropical species *Australorbis glabratus*.

OBSERVATIONS ON SELF-FERTILIZATION

Seven specimens were grown in isolation from the egg-mass of a wild specimen from Belo Horizonte (State of Minas Gerais). Egg-laying started when the snails were about one month old and 8 to 10 mm in diameter, the first egg-mass showing 1 to 9 capsules. In the period between hatching and onset of egg-laying the room temperature ranged from 19.5 to 26° C. Egg production was irregular, and the number of units laid during the first 30 days was 199 to 589 per snail, giving a total amount of 2,734. From the latter, 2,141 (78.3%) developed to hatching, the remaining ones being inviable. In this 30-day period the room temperature varied between 19 and 24° C.

* This work was done through co-operation between the Instituto Oswaldo Cruz and the Serviço Especial de Saude Pública, Brazil.

Further observations were made in 29 other specimens, egg-laying starting when the snails were 51 to 123 days old and measured from 6.5 to 7.5 mm in diameter.

OBSERVATIONS ON THE USUAL MODE OF REPRODUCTION

Since planorbid snails are naturally found in colonial aggregates, the members of which may be frequently seen in copulation, we undertook an investigation on the usual mode of reproduction in *A. glabratus*.

In the papers of Crabb (1927a, b) on *Lymnaea stagnalis* and Larambergue (1939) on *Bulinus contortus* two opposite opinions on the relative importance of self- and cross-fertilization in the reproduction of Pulmonata are expressed.

In Crabb's opinion cross-fertilization is not the normal mode of reproduction in *L. stagnalis*. He thinks that spermatozoa are unable to swim through the viscous substances secreted by the albumen gland, egg membrane gland and mass membrane gland in order to reach the ovum before the latter is covered with albumen. However, the actual existence of a copulatory apparatus furnished with accessory organs would suffice to invalidate that opinion. Moreover, we must admit the existence, in a given animal species, of a strict adaptation between its spermatozoa and the viscous media to be traversed by them along the female genital ducts. A similar disposition is found in birds, the spermatozoa swimming through the materials secreted by the shell, shell membranes and albumen glands to reach the ovum in the upper oviduct.

On the other hand, the results of Larambergue's experiments on *B. contortus* led him to conclude that, in spite of normally existing together in the same organism both kinds of mature sex cells, the foreign spermatozoa introduced during copulation are able to reach the oöcytes before the latter are fertilized by the animal's own spermatozoa (p. 185).

As will be seen, the results of our observations agree with Larambergue's statement.

The use of albino snails in the present experiments

Albino snails were employed in crossing experiments designed to search for the usual mode of reproduction, the factor of albinism being used as genetic marker in such experiments, so that in F_1 generation a distinction could be made between the specimens obtained through cross- or self-fertilization. Por the sake of a better understanding of our observations with albinos we will briefly summarize the results of some preliminary experiments.

Total albinism in Planorbidae is determined by a recessive gene, very rare in relation to its normal allele. The factor being recessive, an albino snail must be homozygous, so that it produces exclusively albinos by self-fertilization. In our experiments, the first 300 eggs laid by three albinos grown in isolation gave the following offspring:

Albino 1: 284 albinos, 16 inviable.
Albino 2: 252 albinos, 48 inviable
Albino 3: 250 albinos, 50 inviable.

Consequently to the fact that albinism results from a couple of recessive alleles, a pigmented snail in the offspring of an albino represents a heterozygous with dominance of the normal allele. Thus, a hermaphroditic self-fertilizing hybrid behaves as a couple of cross-reproducing hybrids, so that its offspring segregate the factors under consideration. Mendelian segregation may be observed in the following example, in which three isolated heterozygous reproduced by self-fertilization:

Hybrid 1:	616	pigmented,	183	albinos,	118	inviable	(3.36 : 1).
Hybrid 2:	658	pigmented,	243	albinos,	101	inviable	(2.71 : 1).
Hybrid 3:	706	pigmented,	252	albinos,	65	inviable	(2.80 : 1).
	1,980	pigmented,	678	albinos,	284	inviable	(2.92 : 1).

Figures in parentheses correspond to the proportions between pigmented and albinos, coming close to the theoretical mendelian ratio occurring in monohybridism (3 : 1).

Crossing experiments

Once acquainted with the genetic behavior of the albino factor, we are able to search for the usual mode of reproduction in the species under investigation, whether by cross- or self-fertilization. A very simple method is used in this work. One albino and one homozygous pigmented specimen having approximately the same diameter are put together in a small aquarium. Egg- laying occurring almost always at night, the specimens are separated at dusk and joined again the next morning. So we can identify the egg-masses of each specimen, which are transferred to small Petri dishes with water and observed under the stereoscopic microscope. For the aim of this investigation our attention is directed exclusively to the eggs of the albino specimen, since those of the pigmented one will consistently give pigmented offspring. If pigmented, the developing embryos clearly show, around the sixth day at about 22° C, a black point at the base of each antenna, corresponding

to the eye spots, no such points appearing in albino embryos. The early appearance of the eye spots in still intracapsular embryos makes possible the speedy completion of a crossing test. In the offspring from an albino snail, pigmented embryos result from crossing, whereas albino ones result from self-fertilization.

If two very young snails are put together before the onset of egg-laying activity, the first eggs from the albino specimen may give either pigmented or albino embryios, depending on whether or not the pigmented specimen has attained sexual maturity.

If self-fertilizing specimens join during plentiful egg production, the first albino's egg-mass laid thereafter may give pigmented embryos exclusively, thus indicating a ready preferential utilization of the foreign spermatozoa. In most cases, however, a few pigmented embryos appear among a majority of albino ones, but their numbers rapidly increase in the subsequent egg-masses, so that the latter soon contain pigmented embryos exclusively. It is obvious that the simultaneous appearance of albino and pigmented embryos in an egg-mass indicates that the latter encloses a mingling of self- and cross-fertilized products.

The crossing experiments just mentioned point out the remarkable fact that *A. glabratus,* notwithstanding being readily able to reproduce by self-fertilization, turns to cross-fertilization as soon as it joins another conspecific individual. Cross-fertilization lasts exclusively as long as the specimens remain together, as occurred in 10 couples till now observed.

Mode of reproduction under field conditions

In order to verify whether under natural conditions cross-fertilization is the preferential mode of reproduction, as in the laboratory, we observed the offspring of 10 albinos collected in the field in the city of Santa Luzia, about 30 Km northward from Belo Horizonte. Every specimen gave pigmented products, resulting from fertilization of their ova by spermatozoa of homozygous pigmented snails in the natural habitat.

This short reference is sufficient to demonstrate that in the field *A. glabratus* normally reproduces by cross-fertilization.

Duration of the fertilizing activity of foreign spermatozoa

The spermatozoa introduced during copulation into the genital tract of a snail are stored up somewhere, so that they continue in their fertilizing activity for a varying period. This fact is demonstrated by observing the offspring of an albino separated from its pigmented partner, the eggs of the former giving pigmented embryos as long as active foreign spermatozoa subsist.

Our observations on this subject were made in the specimens referred to under "Crossing experiments", the albinos having been separated 22 to 56 days after pairing. The snails observed for verification of the "Mode of reproduction under field conditions" were also used in this investigation. The shortest term for appearance of the first albino embryo, indicating a resuming of self-fertilization, was 25 days after separation. The first albino having appeared, the further egg-masses of the respective snail show ever-increasing albinos, so that the pigmented embryos more or less rapidly disappear. The longest term for disappearance of pigmented embryos was 68 days, this corresponding to the maximum survival of the foreign spermatozoa in the present investigation.

COMMENTS

A single specimen of *A. glabratus* is able to found by self-fertilization a colony of numerous individuals. As was seen, the less prolific among our self-fertilizing specimens produced 199 eggs during the first 30 days of egg-laying activity, the latter having started when it was 30 days old. Of those eggs, 180 were viable. If we suppose that in all of its descendants egg-laying would start on their 30th day of age, and that each of them would lay the same minimum number of 180 viable eggs during the further 30 days, according to the distribution recorded for the ancestral specimen, when the latter attained 120 days of age (90 of egg-laying activity) its offspring would amount to about 11,500,000 viable individuals, no computation being made of the many millions produced by it and its descendants after the 30th day of egg-laying. Of course, the suppressive effect of environmental resistance, controlling the fulfillment of biotic potential, should allow no such overproduction of organisms. We can conclude, on the basis of the above reasoning, that after treatment of a breeding place with planorbicides, a single surving specimen will be able to restore the snail population.

It was seen also that, in spite of the highly developed ability of *A. glabratus* to self-fertilize, it gives an absolute preference to reproduce by cross-fertilization. Its colonies, therefore, (and in all probability those of the other planorbids) must be considered as mendelian populations, in the sense of reproductive communities of individuals which share in a common gene pool (Dobzhansky 1950). Such preference to intraspecific hybridization is difficult to explain. In planorbid snails the ova and spermatozoa, formed beside each other in the same epithelial walls of the ovotestis diverticula, are dropped together into the lumen of the latter and travel down together along the hermaphroditic duct. This arrangement is seemingly appropriate to enhance the chances of self-fertilization. Indeed, the gametes of an isolated snail readily

conjugate, but they become reciprocally indifferent as soon as they meet with the spermatozoa from another conspecific individual, the latter then enjoying an absolute preference as fertilizing agents. The evolutionary significance of this fact is worthy of being emphasized. In this way the species secures its own preservation through the gene flow and recombinations which will supply it with a store of concealed genic variability.

In regions exposed to floods during the rainy season, many planorbid populations are not infrequently scoured out from their breeding places, another phase of destruction sometimes occurring in the cold and or dry season, according to the region. In some areas it is even impossible to find a planorbid at those periods. In such cases populations are restored by the few surviving individuals, which represent the link between the preceding and subsequent populations. Those few individuals, gathering all the attributes that will make up the genotypic structure of the restored population, must be considered as the "genetically effective population". If they happen to convey some aberrant hereditary characteristic, the latter may prevail in the next population, thus being transmitted by mere chance. As a result of this phenomenon of genetic drift, the individuals of a colony may so differ from those of an even near colony as to become liable to be considered as belonging to another species. Genetic drift operates particularly in populations that break up into small subpopulations or isolated colonies, the size of which is drastically reduced during certain seasons of the year, as in the case of planorbids.

Restoring of colonies by a single surviving specimen, or establishment of a new colony by an individual carried by water currents should not be exceptional. One such individual may found a small incipient colony by self-fertilization, further reproduction of the population continuing by cross-fertilization. This fact would explain the occurrence of some colonies showing particular characteristics and rather little individual variation.

Ending these comments, we would like to emphasize the utility of so simple a method of genetic marking, by means of the albino factor, in genetical experimentation applied to systematics. According to a genetic concept, species are "groups of populations the gene exchange between which is limited or prevented in nature by one, or by a combination of several, reproductive isolating mechanisms" (Dobzhansky 1953, p. 262). Therefore, the biological discrimination of a species (biospecies) must be based on its level of reproductive isolation. In snails, however, the occurrence of self-fertilization makes the crossing tests liable to misinterpretations. By using albino specimens in these tests it will be possible to know certainly whether or not there occurred interspecific hybridization, and the exact number of hybrids eventually produced.

SUMMARY

A single specimen of *A. glabratus* grown in isolation is able to reproduce quite well by self-fertilization. If it joins another conspecific individual, however, it reproduces exclusively by cross-fertilization.

The possibility of a single specimen being able to give rise to a population may explain the occurrence of some colonies of planorbids showing particular characteristics and rather little individual variation, besides denoting that after treatment with planorbicides a single surviving specimen will be able to restore the population.

By using the factor of albinism as genetic marker in crossing experiments, in F_1 generation a distinction can be easily made between the specimens obtained through cross- and self-fertilization.

The use of albino snails in genetical experimentation applied to systematics will contribute to the biological recognition of species, thus reinforcing the morphological criterion.

Contribuição para o conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático do Brasil *

por

Octavio de Magalhães

(Com 4 gráficos e 1 quadro)

Vimos estudando, em trabalhos já bem numerosos, as doenças do grupo tifo exantemático que encontrámos em Minas Gerais e no resto do País.

Registrámos, assim, o tifo exantemático neotrópico em Minas Gerais, em São Paulo, Rio de Janeiro e já agora, também, no Estado de Goiás. Apuramos o tifo murino, primeiro em Belo Horizonte, em ratos e, depois, em casos humanos, no fóco de Ouro Preto, êste último tipo de febre exantemática também já verificado por outros pesquisadores, Piza, Travassos e al., em São Paulo e no Rio de Janeiro e Renato Gregory no Estado do Rio Grande do Sul.

Hoje vimos trazer uma observação que rotulamos de febre Q (Q fever de Derrick e autores) dos norte-americanos. O histórico dessa doença é simples, apesar de ela ter já várias designações. Em Agosto de 1935, ocorreram vários casos de "febre" entre os trabalhadores em Brisbane, na Austrália. O Diretor dos serviços médicos, Sir Raphael Cilento incumbiu o Sr. E. H. Derrick de investigar o problema sanitário.

O autor pressentiu que a doença era nova e em falta de melhor e mais adequado nome, até melhor classificação, denominou-a "Q fever". Outros trabalhos se seguiram, entre êles os de F. M. Burnet e M. Freeman (de Melbourne), Hornibook, Nelson, Findley, Perrin, Bengtson, Lillie, Cheney, Geib, Topping, R. R. Parker, H. R. Cox, etc., com dados colhidos na clínica, em infecções de laboratório e em fatos experimentais. O assunto realmente já tem sido bastante tratado. A doença, como o tsutsugamushi e o tifo murino, só acidentalmente é que aparece no homem. O ciclo do virus independe dêste. A doença tem tido várias designações: Australian Q fever, American Q fever, Pneumonitis diaporica, Qeensland fever, etc.

---

* Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte e do Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da U. M. G. Dezembro de 1954. Entregue para publicação a 23 de Março de 1955.

Nas primeiras observações, Derrick afirmava se tratar de uma doença do homem, febril, com baixa mortalidade, lembrando formas atenuadas do Tifus, com a duração de 7 a 24 dias, dôres de cabeça, anorexia, fotofobia, sendo que de 3 em 9 doentes não apresentavam exantema. O Weil-Felix era negativo para todos os Proteus.

Em outras observações clínicas, vemos assinaladas conjuntivites oculares, náuseas, vômitos, fócos de pneumonia ou bronco-pneumonia controladas pelo raio-X, icterícia, epistaxis, às vezes meningismo sem alteração do líquido céfalo-raqueano, sem esplenomegalia, etc.

As inoculações em cobaios produzem após uma incubação de 1 a 15 dias, 2 a 3 dias de febre sem reação testicular e sem morte dos animais. É depositário do virus na natureza o Isoodon torosus e transmitem ou são portadores do virus, vários carrapatos como o Dermacentor andersoni, Hemaphysaris humerosa, Ixodes holocyclus, Boophilus annulatus, etc.. Como agente etiológico, foram descritas a Rickettsia (Coxiella) diaporica (Cox, 1939) e a Ricketsia burneti (Derrick, 1939), sendo que êste, tem a primazia na descrição, se bem que alguns autores achem uma, variedade da outra.

O assunto foi ventilado em São Paulo, em 1947, pelo ilustre colega Prof. Helvécio Brandão, antigo companheiro do Instituto Biológico Ezequiel Dias (vide bibliografia) e atualmente na Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Os dados que colheu foram então confirmados pelo Laboratório de Microbiologia da Harward School of Public Health. Em Setembro de 1951, êle fez a primeira comunicação à A. P. M. e em 1953, nos Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da U. S. P. publicou, com Luiz A. Ribeiro do Vale e Décio de Almeida Cristóvão, um trabalho preliminar, tendo feito vários inquéritos epidemiológicos e em 1954, novas comunicações ainda inéditas (1.XII.1954) à A. P. M. e S. B. P. S., esta última na reunião em Ribeirão Preto, em 1954.

Temos visto em Minas Gerais, além de numerosos casos de pneumonia vera, clássica, lobar, alguns outros bem atípicos, certamente de virus e outros não classificados que hoje suspeitamos tratar-se de febre Q.

A observação que vamos descrever enquadra-se, a nosso ver, perfeitamente dentro do grupo da febre Q acima referido. Naturalmente, em Biologia há doentes, não há doenças, como tão bem exprimia Miguel Couto, mas as pequenas variantes que encontramos no laboratório não invalidam o diagnóstico que aquí fazemos. Será o primeiro caso humano apurado entre nós,* confirmado pelas provas de laboratório. Não é fácil, aliás, o fazer, principalmente para estabelecer o diagnóstico diferencial que só pelo laboratório pode ser conseguido.

---

* Minas Gerais.

OBSERVAÇÃO

J. P. E., preto, com 33 anos, casado, brasileiro, lavrador, tendo vindo da Vila Maribondo. Em 7 de Outubro de 1954, foi internado no Instituto Raul Soares de Belo Horizonte, porque o supuseram louco. Esteve internado naquele manicômio durante alguns dias, quando nos procurou um interno daquela casa, para elucidação do diagnóstico. Quando o examinamos, não foi possível fazer uma bôa anamnése, porque, além de surdo, o paciente estava pouco lúcido. A temperatura axilar era de 40 graus e o pulso rítmico, mas acelerado. Apresentou fenômeno de meningismo. Um ligeiro inquérito mostrou que eram seus pais J. E. e M. B., que nos informaram que o paciente, num acesso de delírio, fugiu para o mato, de onde foi retirado, coberto de carrapatos e já em estado febril. A suspeita de tifo exantemático fez com que fôsse instituido, desde logo, o tratamento pela Terramicina, em injeções de 100 miligramas de 12 em 12 horas, além da terapêutica bucal, de 250 miligramas de 4 em 4 horas. Em 12 de Outubro de 1954, foi o paciente transferido para o Hospital Cícero Ferreira, apresentando, à entrada a temperatura axilar de 38 graus e o pulso de 100 pulsações (vide gráfico). Ao exame, encontrámos o paciente calmo e, não sendo possivel precisar o dia exato do início do mal, calculámos de 8 para 9 dias. Foram colhidas sôbre o doente, numerosas ninfas de Amblyomma cajannense. O estado geral era bom. Lingua úmida, saburrosa, branca. Abdome flácido, indolor à palpação, como indolores foram as compressões das massas musculares. Baço e fígado nos limites normais. Bulhas cardíacas audíveis em todos os fócos, com timbres sem alterações. Na base do pulmão esquerdo, foram notados extertores crepitantes em grande quantidade e, 2 dias após, sôpro tubário clássico. A côr do paciente não permitiu perceber qualquer exantema, mesmo discreto. Não tinha expectoração, tendo desaparecido os fenômenos de meningismo que apresentára quando no Instituto Raul Soares.

EXAMES COMPLEMENTARES

Líquido céfalorraqueano
Punção cisternal
Propriedades físicas: opalescente com rede de fibrina
Citometria: 430 células / mm^3
Citologia: Linfócitos — 5; Monócitos — 10; Neutrófilos — 85
Albumina: 0,45 g/mil.
Cloretos: 7 g/mil.
Glicose: 0,60 g/mil.
Pesquisa de globulinas: Reação de Pandy: +; Reação de Nonne-Appelt: +; Reação de Ross-Jones: +; Reação de Weichbrodt: +

Reação para lues
- Reação de Wassermann (Técnica de Assis): 1,0cc: Negativo; 0,5cc: Negativo; 0,2cc: Negativo
- Reação de Migliano — Negativo (precipito-clarificação pela centrifugação)

Reações coloidais
- Benjoin: 000.001.222.111.000
- Ouro:
- Takata-Ara: + (tipo 2)

EXAME BACTERIOSCÓPICO

Ziehl: Negativo

(Belo Horizonte, 7 de Outubro de 1954)

As sementeiras do líquido céfalorraqueano em Agar e Agar-sangue, ficaram estéreis 72 horas a 37º.

Hemocultura: estéril a 37º durante 72 horas.

Widal — 0 para T, A, B e C

Weil-Felix — Positivo — 1/80 + O.X.19 | 1/40 + O.X.2

R. F. C.: — Grupo da F. E. M. R. — 0

Tifo murino — 0

Tifo histórico — 0

Febre "Q" — Positivo ++ 1/20

PESQUISAS DA R. F. C. (Febre Q) ENTRE TRABALHADORES DO MATADOURO MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE E OUTROS LUGARES DE MINAS GERAIS

Inoculações em cobaios — vide gráfico.

Os exames de sangue e urina, que foram pedidos, não foram executados, por motivos óbvios.

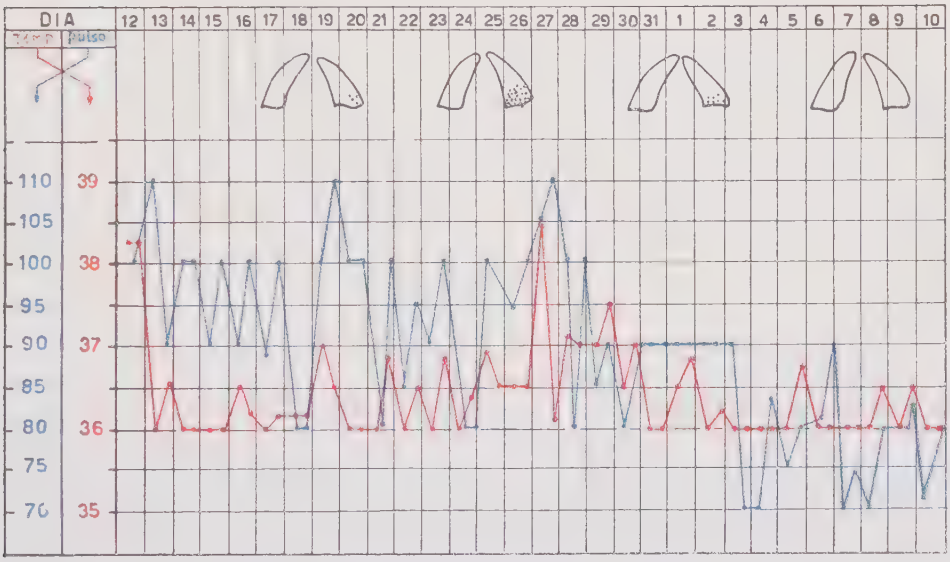
O cobaio n.º 60, que reagira um dia a mais de 1 gráu centígrado, mas não morrera, 16 dias após a alta foi reinoculado com a raça V.B., reagindo tipicamente, com a seguinte temperatura: 37,8 — 37,9 — 38,0 — 37,9 — 38,2 — 40,0 — 40,1 — 39,8 — sacrificada. Lesões típicas. Os cobaios inoculados, via intra-peritoneal, com o triturado de 6 ninfas de Amblyomma cajannense, em sôro fisiológico, que haviam sido colhidas sôbre o doente, não tiveram a menor reação.

A R. F. C. foi feita de acôrdo com a técnica e o antígeno fornecidos pelo Laboratório Lederle, isto é, juntando a mistura glóbulos e hemolisina, após a permanência por 1 noite na geladeira, à temperatura de + 6 do antígeno + complemento e sôro suspeito diluido, de 1/4 até 1/128.

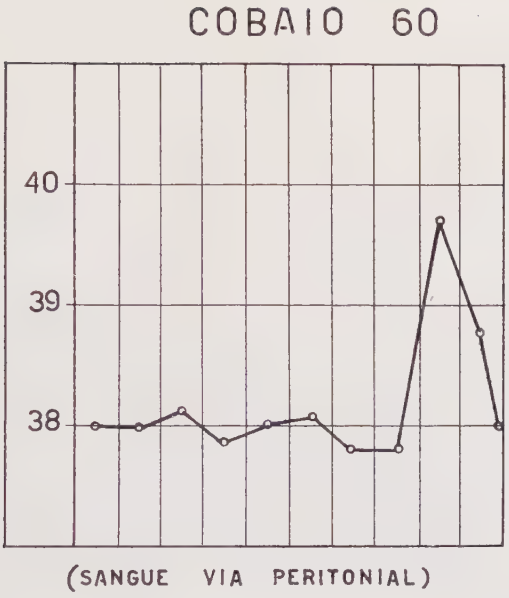
PULSO E TEMPERATURA

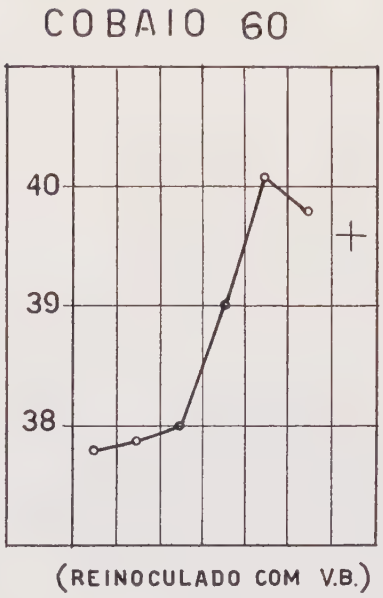
FEBRE "Q"

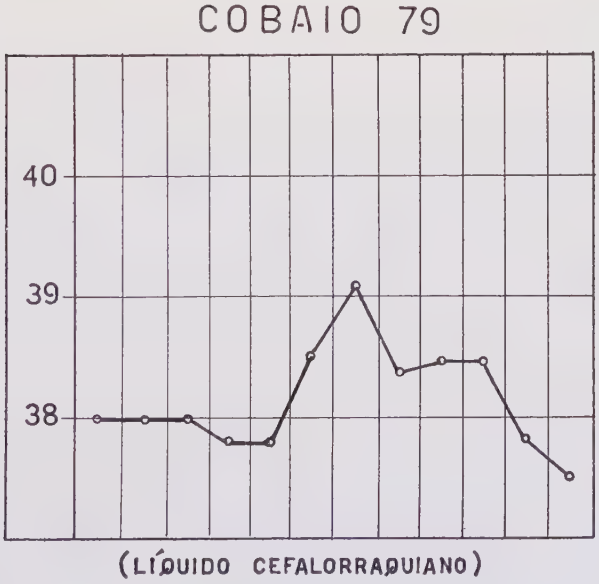
J. E. P.



TEMPERATURAS







PESQUISAS DA R.F.C. (Febre Q) ENTRE TRABALHADORES DO MATADOURO MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE E OUTROS LUGARES DE MINAS GERAIS

NOME	FUNÇÃO	Resultado
1) — A. P. de Carvalho	Curraleiro	1/128(+)
2) — A. Leoncio	Esfolador	0
3) — A. S. de Andrade	Esfolador	0
4) — F. F. Filho	Serrador	1/8(+)
5) — J. J. de Castro	Esfolador	0
6) — E. de Oliveira	Cuida da cabeça	1/4(+)
7) — J. M. de Souza	Curraleiro	0
8) — W. Ferreira	Curraleiro	0
9) — J. A. de Oliveira	Curraleiro	1/32
10) — E. S. Costa	Curraleiro	1/16
11) — S. J. Silva	Curraleiro	0
12) — I. da Silva	Curraleiro	0
13) — F. Pereira	Magarafe	0
14) — P. G. de Oliveira	Magarefe	1/32
15) — G. J. Ferreira	Magarefe	1/32
16) — J. V. da Silva	Magarefe	1/8
17) — J. A. Viana	Magarefe	0
18) — F. Ribeiro	Magarefe	0
19) — V. Taranto	Magarefe	1/32
20) — E. D. Angelo	Magarefe	0
21) — J. R. de Alcântara	Magarefe	Impediente
22) — F. de S. Vieira	Magarefe	1/32
23) — R. C. Rosa(*)	Itabira — zona rural	0
24) — O. Martins (*)	Itabira — zona suburbana	0
25) — J. M. de Souza	Belo Horizonte — zona rural	0
26) — J. do Nascimento	Belo Horizonte — zona rural	0
27) — H. Brito	Belo Horizonte — Técnico laboratório	0
28) — A. Mattos	B. Horizonte — Servente laboratório	0
29) — J. A. Almeida	B. Horizonte — Servente laboratório	0
30) — M. Fernandes	Lavrador	0
31) — A. Pereira	Carpinteiro	0
32) — A. G. Assunção	Funcionário público	0
33) — J. de Deus	Pedreiro	0
34) — G. A. Coelho	Lavrador	0
35) — J. G. Dias	Fogueteiro	0
36) — J. T. dos Santos	Lavrador	0
37) — F. F. Martins	Tratador de gado	0
38) — D. Ferreira	Lavrador	0

DIAGNÓSTICO

A princípio, Tifo exantemático neotrópico no Brasil, variedade nervosa (?). Pelas provas de laboratório, porém, firmamos o diagnóstico: FEBRE "Q".

TERAPÊUTICA

Tomou 1 grama de Terramicina, via intramuscular — 100 miligramas de 12 em 12 horas e 16 cápsulas de 250 miligramas, via oral. Em seguida, pelo estado pulmonar, foi-lhe ministrada Penicilina e Sulfa. Tomou também injeções de sôro glicosado hipertônico, via intravenosa, sôro glicosado isotônico, via intramuscular, tônicos gerais e cárdio-vasculares. O doente melhorou espetacularmente após o tratamento com a Terramicina, física e psiquicamente. Alta curado. O quadro que adiante publicamos demonstra realmente que, além desta observação, outros pacientes tiveram a moléstia entre nós.

Pensamos ser necessário um maior inquérito, principalmente nos casos de pneumonias bastardas, atípicas, mórmente entre os indivíduos que lidam com animais.

Agradecemos ao Dr. Dagoberto Ministério e ao Dr. Cássio Malheiros, as facilidades que nos proporcionaram nos trabalhos no Matadouro Municipal de Belo Horizonte.

SUMMARY

In this work the author publishes an observation of a human case, which he believes to be the second in South America, of "Q" fever in Minas Gerais.

The first positive data and the first observation were made in S. Paulo by Dr. Helvecio Brandão and there communicated to the S. Paulo Medical Association in 1951 and 1954. The first part was published in 1953; the second part is yet unpublished.

The author of the present work cured his patient with Terramycine. He thinks that greater research should be made amongst the workpeople who have to do with cattle in the pastures and slaughterhouses in order to verify the extent of the disease amongst us.

Belo Horizonte Dezembro de 1954

BIBLIOGRAFIA

Brandão, Helvécio; Ribeiro do Vale, Luiz A.; Christóvão, Dácio de Almeida — Investigações sôbre a febre Q em São Paulo. I; Estudo sorológico em operários de um frigorífico. — Arquivos da Fac. Hig. Sau. Pub. 7:127, 1953. Apresentado em 4/9/51 ao Dept. de Higiene e Medicina Tropical da A.P.M., cujo resumo saiu na Rev. Paul. de Med., 39:567, 1951.

BURNET, F. M. and FREEMAN, Mavis — Experimental Studies on the Virus of Q Fever — The Med. Jour. of Australia, II:299-305, Aug. 21, 1937.

DERRICK, E. H. — "Q" Fever a New Fever Entity: Clinical Features, Diagnosis and Laboratory Investigation — The Med. Jour. of Australia, II:281-299, 24 th year, 21 August 1937.

FORHES, R. R. V.; KEAST, J. C. & WANNAN, J. S. — A Serological Survey of Cattle in New South Wales for "Q" Fever Infection. Preliminary Report — The Australian Veterinary Jour., 30(9):266, Sept. 1954.

MAGALHÃES, Octavio — Contribuição Para o Conhecimento das Doenças do Grupo Tifo Exantemático no Brasil — Nota Prévia (Brasil Médico). Agosto Dezembro de 1954. Ano 68. Ns. 32 a 52 pags. 17-18.

MARMION, B. P. — Natural History and Epidemiology of Q Fever in Man — Trans. of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 48(3): 197-207, May 1954.

NOLDEN, J. — Eine "Q" Fieber Epidemi in der Nordwesteifel — Deutsche Medicinische Wochenschift, 79(47):1743-1745, Jahrgang 19.XI.54.

PRICE, Winston H.; JOHNSON, James W.; EMERSON, Hope & PRESTON, Claire E. — Rickettsial-Interference Phenomenon: A New Protective Mechanism. Science, 120(3116):457-459, 17 September, 1954.

RIBEIRO DO VALLE, L. A.; BRANDÃO, H.; CHRISTOVÃO, D. A.; D'APICE, M. — Investigações sôbre a Febre Q em São Paulo. II. Estudo sorológico em tratadores de gado e em bovinos. — Apresentado ao Dept. de Higiene e Med. Tropical da A. P. M. em 4/8/53, cujo resumo saíu na Rev. Paul. de Med. 43:518, 1953.

RIBEIRO DO VALLE, L. A.; CASTRO, R. M.; BANOI, O. N.; FERREIRA, J. M. — Febre Q em São Paulo: primeiro caso clínico comprovado por estudos sorológicos. — Apresentado ao Dept. de Higiene e Medicina Tropical da A. P. M. em 8/9/54.

RIBEIRO DO VALLE, L. A.; BRANDÃO, H. & CHRISTÓVÃO, D. A. — Investigações sôbre a Febre Q em São Paulo. III. Inquérito sorológico realisado em diferentes grupos de habitantes da Capital e do Interior do Estado. — Apresentado ao Dept. de Higiene e Medicina Tropical da Ass. Paul. de Med., em 4/10/54.

RIBEIRO DO VALLE, L. A.; BRANDÃO, H.; CHRISTÓVÃO, D. A. — Investigações sôbre a febre Q em S. Paulo. IV. Estudo em sôros de Pacientes apresentando quadros clínicos diversos — Apresentado ao Dep. de Hig. e Med. Trop. da A. P. M. em 4/10/54.

RIBEIRO DO VALLE, L. A.; BRANDÃO, H. e CHRISTOVÃO, D. A. — Estudos sôbre a Febre Q em São Paulo. Apresentado à seção de Patologia Animal e Humana do VI Congresso da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realisado em Ribeirão Preto, em 12/11/54.

SOUTHWOOD, A. R. — Zoonosis in Australia — American Journal of Public Health, (11):1402-1410, Nov. 1954, V. 44.

STOCKER, M. G. — Clinical Features and Laboratory Diagnosis — "Q" Fever — Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. & Hyg., 48(3):191, May 1954.

Ensaios de micologia*

por

Octavio de Magalhães

(Com 5 gravuras)

O presente artigo refere-se às lesões oculares pelo 4.º grupo, classificação de E. Fuchs: d (agentes parasitários) ou no capítulo IV da "Oftalmologia Tropical" de Cesário de Mello.

Naturalmente, compreendemos aquí parasitos no sentido lato e talvez verdadeiro do têrmo. Certamente, não podemos nos referir a todos os parasitos capazes de lesar o aparêlho visual do homem. Trataremos apenas das infecções pelos fungos, ou melhor, pelos cogumelos patogênicos que, em Minas Gerais, provocam lesões nos homens.

As micoses do aparêlho ocular não têm, nesse Estado central do Brasil, como em outros lugares, a frequência das localizações de outros aparêlhos da economia humana. No mundo, os trabalhos sôbre a matéria mostram que o registro daquelas localizações oculares são realmente raros. Em Minas Gerais, ocuparam-se do assunto, os professores Lineu Silva, Antonio Aleixo, Orsini de Castro e Hilton Rocha. A primeira referência que nos consta é a do Prof. Lineu Silva que, na Segunda Reunião da Clínica Dermato-sifiligráfica de Belo Horizonte, na sessão de 25 de abril de 1919, apresentou uma observação de "Caso de Esporotricose Nodular Primitiva da Conjuntiva Bulbar do O. D., com localizações Cutâneas Consecutivas". A pedido do Professor Lineu que descreveu clinicamente as lesões, um de nós (O. M.) insulou, puras, culturas do Rhinocladium beurmanni.

A segunda referência é do Prof. Antonio Aleixo que, nas sessões de 29 de Agosto e 26 de Setembro, VI e VII Reuniões da Clínica Dermatosifiligráfica em 1919, apresentou uma comunicação sôbre um caso de esporotrichose peri-orbitária e de um outro caso de esporotrichose palpebral, sendo que neste último, por contágio familiar. Em ambos os casos, foram obtidas culturas puras dos fungos, sendo que a terapêutica pelos iodetos foi decisiva na cura da moléstia.

---

* Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte — Laboratório de Fisiologia e Hospital São Geraldo da Faculdade de Medicina da U.M.G. Dezembro de 1951 a Fevereiro de 1955. Entregue para publicação a 23 de Março de 1955.

Em 1923, o atual Prof. Olinto Orsini publicou, nos Arquivos Mineiros de Dermatologia e Sifiligrafia, V(17)(20):36, uma observação de esporotricose ocular e uma pequena nota, na sessão de 22 de Setembro de 1923. Tratava-se de um doente de 14 anos, matriculado no Posto de Profilaxia de Moléstias Venéreas da Diretoria de Saúde Pública do Estado de Minas Gerais. "Era portadora de uma ulceração no dorso do nariz, a 1 centímetro do ângulo interno do ôlho direito. Na pálpebra superior, tomada de ligeiro edema, sentia-se um gânglio aumentado e, assim, outros em direção ao lóbulo da orelha direita."

Em 21 de Março de 1934, o Prof. O. Orsini enviou-nos para pesquisa de cogumelo, um doente com lesão palpebral, da qual também insulamos o Rhinocladium beurmanni. Não ví, até hoje, publicação dêste professor, referente a êste caso.

O Prof. Hilton Rocha, em 30 de Setembro de 1938, teve também um caso de esporotricose palpebral (inferior esquerdo), da qual o Dr. Aroeira Neves insulou o Rhinocladium beurmanni.

No "Ophtalmus", 3(2):205-211, de 1943, o Prof. Hilton Rocha publicou uma observação sôbre "Cromomicose conjuntival primitiva" que o Dr. Aroeira Neves, pela morfologia do fungo nos cortes e esfregaços, julgou tratar-se do "Hormodendrum pedrosoi". Disse o Prof. Hilton Rocha: "O a. relata uma observação que lhe parece inédita, de cromomicose conjuntival primitiva. Duas formações lobulares, idênticas, centradas por 2 pequenos pontos pretos na conjuntiva bulbar, próximo ao formix inferior". E, mais adeante: "O paciente era portador, também, de uma "ulvite cerosa" binocular, com Mantoux fortemente positivo. O autor conclúe pela simples coincidência dos dois processos.

Em 1948, o Prof. Hilton Rocha e H. Bonfioli apresentaram ao IV Congresso de Oftalmologia de Mar del Plata, uma comunicação sôbre micose ocular. Neste trabalho, os AA. descrevem 2 casos de "Dacrocistite micótica" com "caractéres clínicos clássicos" de actinomicose e que o Dr. Aroeira Neves, pelo laboratório, confirmou tratar-se de Actinomyces, não chegando à determinação da espécie, mas provavelmente, segundo os AA., A. Föersteri.

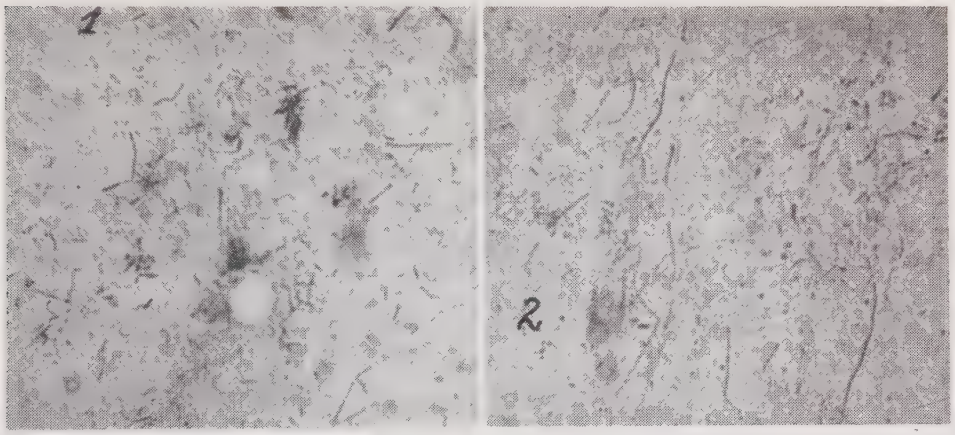
Estudam clinica e micologicamente um caso de Micose de Lutz, entrando, de acôrdo com os dados fornecidos pelo Dr. A. Neves, na sistemática do fungo produtor, que êste micologista achava deveria ficar entre os "Aleurismas", portanto "Aleurisma brasiliensis".

Pormenorizam após, 4 casos de esporotricose ocular, sendo 2 dos AA., com esporotricoma inicial justificavel de linfangite palpebro-facial e 2 outros, mais raros, de acometimento conjuntival, cedidos pelo Prof. Lineu Silva, que já os havia apresentado ao I Congresso Argentino de Oftalmologia. Finalmente reeditam a observação de cromomicose conjuntival primitiva que, em 1943, descrevera o Professor Hilton Rocha.

Em 24 de Agosto de 1952, o Dr. Carlos Alberto Sales enviou um doente para pesquisa de cogumelos, com uma lesão da pálpebra inferior, gomosa, purulenta. Daí insulamos o Rhinocladium beurmanni. Nada ví publicado sôbre êste caso, por aquele colega.

Da literatura médica mineira, são os únicos registros apontados que conhecemos.

Na página 1654 de seu magnífico tratado de Oftalmologia de 1941, Duke Elder, no vol. II, Seção XI diz, estudando separadamente cada cogumelo por tecido do ôlho: "Fungus infections of the conjunctiva are rare..." Fala em Trichomycetos, Streptotrichoses, Phycomicetos, Ascomycetos e Fungi imperfecti, compreendendo êste conjunto Esporotrichoses, Actinomycoses, Rhinosporidioses, Monilias, Blastomicoses, Rhinocladioses, Trichophytons, Favos, etc.



1 — Esfregaço proveniente do pus. Dacrio canaliculite. 2 — Esfregaço de cultura pura de cogumelo, proveniente do pus, no 30.º dia de cultivo, a 37ºC na estufa.

Na página 1941 do mesmo tratado, no parasitismo da córnea, o autor se refere às Queratomicoses provocadas por Aspergilus e Actinomyces, Mucor cornealis, Glenospora graphii e fungos levuriformes.

Na página 2367 do vol. III diz o autor: "Fungus infection of the uveal tract are extremely rare, only sporadic cases appearing in the literature" e cita, então, os Actinomyces, blastomyces e aspergilus, como causadores da lesão uveal.

Na página 2673 do vol. III, referindo-se à retina, cita o autor L. Muller, que descreveu lesões bilaterais retinianas por actinomicose. Finalmente, no vol. IV, na página 3523, diz: "a further rarity is a suprasellar mycotic granuloma (Aspergillosis, Zwahlen, Jéquier, Raymond and Crausaz — 1947)".

Cesário de Andrade, no cap. V do seu livro sôbre Oftalmologia Tropical, referindo-se a cogumelos do aparêlho ocular, anota os seguintes paracoccidioides brasiliensis, cromomicoses, rhinosporidium, esporotricoses e actinomicoses.

Em 1950 (ob. cit.), Floriano de Almeida faz um ligeiro histórico das micoses oculares no mundo, dando fotocópias de lesões provocadas por

Sporotrichum Schencki — Tinhas, Paracoccidioides brasiliensis. Refere-se a casos de outros autores, de Rhinosporidiose e Cromomicose (H. Rocha). Não é só na parte externa do aparêlho da visão que podemos encontrar referências às lesões micóticas. Há, na literatura universal, casos de compressão do quiasma dos nervos óticos por abcessos aspergilóticos (granuloma micótico).

N. John dá 19 espécies capazes de localização no aparêlho da visão.

Como vemos, são numerosos os fungos que podem atingir o aparêlho ocular e poderíamos, como mais importantes, assim enumerá-los na seguinte lista de gêneros e 1 família:

1.	Candidas	Berkhout, 1923 *
2.	Sacaromicetaceas	Lowenhoek, 1860
3.	Torulopsis	Berlese, 1894
4.	Rhinosporidium	Seeber, 1896
5.	Coccidioides	Posadas, 1892 **
6.	Paracoccidioides	Lutz-Almeida, 1904 ***
7.	Gilchristia	Redaelli, 1934, emend. **** Ciferri
8.	Aspergillus	Micheli, 1792
9.	Penicillium	Link, 1809
10.	Scopulariopsis	Bainier, 1907
11.	Gymnoascaceae	Matrouchot, 1899 Dassonville
12.	Actinomyces	Harz, 1878
13.	Actinobacilus	Brumpt, 1910 *****
14.	Cephalosporum	Korda, 1839
15.	Hormodendrum	Bonordem, 1851
16.	Phialophora	Thaxter, 1915
17.	Sporotrichum	Link, 1809 ******
18.	Beauveria	Buillemin, 1911
19.	Glenosporopsis	Berkelen et Curtis, 1859 emend. O. Fonseca, 1943
20.	Mucor	Micheli, 1729

Dada a exposição do aparêlho externo da visão, a contaminação pelas poeiras do ar, com microsinfonados, outros cogumelos e mesmo bactérias não é rara. Mas é preciso ter cuidado e não considerar tudo que aí se encontra como elemento parasitário patogênico específico.

Fayaka, em 25% dos olhos sadios (450 casos) encontrou 42 esporos diferentes de cogumelos que aí vegetavam.

---

* Leveduroses (nome genérico).

** *** **** Devem passar para o gênero "Aleurisma", Link, 1809, segundo A. Neves e L. Bogliolo.

***** Gênero da família "Bacteriaceae", Cohn, segundo Langeron e Bergey e al.

****** Rhinocladium — Saccardo e Marchal, 1885, para alguns autores.

Cêrca de 13 espécies de Actinomyces são apontadas como causadoras de lesões do aparêlho ocular, insuladas de queratites, conjuntivites, dacriocistites, abcessos, etc. E' quasi certo que muitas espécies, com o tempo e melhor conhecimento, caiam em sinonimia. O mais antigo é o Actinomyces Föersteri (Cohn. 1874). Há pouco tempo, (1951), da

Actinomyces Silberschmidti. 3 — Cultura em anaerobiose. Agar inclinado. Colônias na superfície. 4 — Cultura de 30 dias em caldo sôro. Anaerobiose.

clínica do Hospital São Geraldo,* foi enviado para o laboratório, material suspeito de parasitismo por cogumelo de 2 casos clínicos.** O esfregaço do puz, cuja microfotografia damos junto, já fazia suspeitar da presença de um Actinomyces. Fizemos, então, sementeiras por várias

* Serviço do Prof. Hilton Rocha.

** Traziam o seguinte diagnostico: "Caso de dacrio-canaliculite micotica, clinicamente Actinomyces".

técnicas, aeróbias e anaeróbias em meios diferentes de cultura e, no quadro adiante, damos um estudo de 4 dos principais Actinomyces que nos interessam na matéria, para comparação e, mais adeante, uma descrição minuciosa dos cogumelos insulados.

A. FOERSTERI (Cohn, 1874)	A. SILBERSCHMIDTI(*) (Chalmers et Christopherson, 1916)	A. BOVIS (Hartz, 1877)	ACTINOMYCES BRASILIENSIS (Lindenberg, 1909)
Culturas anaeróbias fáceis	Culturas anaeróbias fáceis. Obrigatório a 37°C	Culturas anaeróbias oorigatórias. 37°C ótimo	Culturas anaerobias facultativas
Culturas aeróbias facultativas	Não se desenvolvem	Não	Fáceis no ambiente ou a 37°C
Gelatina – Pequenas colônias. Não se dissolve	Abundantes. Dissolve-se totalmente nos 15os. dias	Não se liquefaz	Dissolução variável com a amostra
Cheiro de bolor	Cheiro de peptona fermentada	Cheiro de bolor ou terra	Odor de terra molhada
Agar. Colônias pequenas cinzentas, cerebriformes	Colônias pequenas, sêcas, abundantes, branco-pardas como cabeças de alfinetes	Colônias úmidas, brilhantes	Crescimento excasso, aspecto branco-amarelado no centro e laranja-ocráceo nas margens
Batata. Abundante crescimento	Crescimento nulo	Pequenas colônias pardacentas	Cresce bem. Colônias branco-amareladas
Caldo. Pequenas esferas caindo no fundo do tubo	Colônias abundantes em suspensão. Depósito abundante.	Bem. Escamas brancas que em breve caem no fundo do tubo	Crescimento lento. Não turva. Depósito esbranquiçado, pequeno.
Coelho. Mata em 10/14 dias	Não é patogênico	Mata	Não é patogênico
a) Cobaio; **b**) Camundongo	**a** e **b** não mata. As vêzes lesões localizadas	Sim para **a** e nula para **b**	Não é patogênico
Lesões e esfregaços. Grãos finíssimos, formados de filamentos delgados	Semelhantes as vêzes a bacilos diftéricos, não raro ramificados. Formas lembrando clavas. Grãos branco-amarelados muito pequenos	Grãos amarelados, esbranquiçados ou acastanhados	Grãos branco-amarelados. Formação variável das clavas
Gram	Irregularmente positivo	Positivo	Positivo
Acido resistente	Negativo	Negativo	Negativo

(*) Como vemos há diferenças bem nítidas entre êste Actinomyces e o A. Förster, apesar de E. Brumpt colocá-lo como sinônimo daquêle.

O QUE ENCONTRÁMOS

O material colhido em 2 casos da clínica de olhos da Faculdade de Medicina, no Hospital São Geraldo, era purulento e provinha de dacrio-canaliculite suspeitas de micose. Viam-se grãos muito pequenos, milimétricos, branco-amarelados, perceptíveis a ôlho desarmado. Entre lâmina e lamínula, com lactofenol ou em esfregaços corados, apresentavam-se massas de aspecto bacilar, numa rêde intrincada de formas irregularmente ramificadas, com pequenos esporos esféricos e, em alguns pontos, com aspectos que lembravam clavas. Eram irregularmente Gram positivos, com aspecto de bacilo diftérico e não eram a.a.r. (Ziehl-Neelsen). A fotografia número 1 dá idéia do que afirmamos.

Pelo Giemsa, tinha-se a impressão de colônias, verdadeiros novelos de bacilos e corpos pequeníssimos (esporos), numerosos bacilos com granulações, não raro bi-polares e, em alguns pontos, formas micelianas com reservas protoplasmáticas.

Actinomyces Silberschmidti. 5 — Caldo sôro a 37° — 30 dias de cultivo (grande aumento para mostrar as colônias da superfície). Anaerobiose.

Tentámos então, com o material de 2 casos que nos haviam sido remetidos, culturas de várias maneiras e em meios diferentes. As culturas eram em aerobiose e anaerobiose. As primeiras, pràticamente não se desenvolveram e tinha-se a impressão que era o próprio material depositado sôbre o meio de cultura que ali continuava depois de meses de observação.

Em anaerobiose, à temperatura do laboratório, também não foi possível quase ver o crescimento. A 37 gráus na estufa, porém, o crescimento foi rápido e abundante. Nesta temperatura, com 36 horas, já era possível ver um aparecimento da multiplicação do Actinomyces.

Ensaiamos nos seguintes meios de cultura:

Anaerobiose

Caldo — Camada alta — 37° C. Crescimento no fundo do tubo.

Agar — Na mesma temperatura. Na superfície do meio inclinado, crescimento em lençol. Colônias insuladas e pequenas, como um pontilhado branco na superfície do meio (vide fotografia II).

Caldo sôro — Culturas abundantes, floconosas, brancacentas, aderentes às paredes do tubo. Depósito abundante, esbranquiçado no fundo do tubo, em 30 dias de cultivo. Não turvou o meio.

Caldo sôro — À temperatura ambiente, crescimento praticamente nulo.

Gelatina (a 37° C) — Crescimento floculoso, em 13 dias. Dissolução total do meio em 15 dias.

Sôro coagulado — Não se desenvolveu.

Leite — Coagulado em 30 dias.

Löeffler — Crescimento como de bacilos diftéricos. Colônias salientes e mamelonadas.

Batata (simples e glicerinada) — não germinou.

Agar sangue — Fraco crescimento.

Sabouraud glicosado — Fraco crescimento.

Meio de Petroff — Pequenas colônias enrugadas.

Aerobiose

Agar fubá
Agar sangue
Batata simples e glicerinada
Sabouraud glicosado e maltosado
Agar cistina
Caldo peptonado

Não germinaram em qualquer dêsses meios, no ambiente ou a 37° C.

Estudo da fermentação em anaerobiose

Levulose	+
Dextrose	0
Maltose	+++
Glicose	0

Poder patogênico para animais de laboratório

Não produziu qualquer lesão apreciável em coelhos, cobaias e camundongos brancos, pelas vias intra-muscular, intra-venosa, intra-peritoneal, escarificação da córnea, com culturas antigas ou recentes.

Os esfregaços de cultura dão, como resultado, aspectos semelhantes ao do material purulento provido dos olhos. Apuram-se germens de grande polimorfismo, baciliformes, cocáceos, filamentosos, com ou sem o aspecto de clavas. Os bacilos lembram, não raro, os diftéricos e os filamentos, contém reservas protoplasmáticas como as que vemos nos cogumelos das tinhas. São Gram positivos, irregularmente, e não se coram pelo Ziehl-Neelsen (a.a.r.).

Diagnóstico

Actinomycose ocular pelo Actinomyces Silberschmidti.

Anatomia patológica

As lesões dos Actinomyces são já bem conhecidas. Simples reações de infiltração, agudas ou crônicas ou verdadeiros granulomas micóticos, de fácil determinação, principalmente pela presença do fungo característico ou, pelo menos, indicativo do grupo a que pertence. Seria supérfluo que aquí viéssemos escrever o que se encontra nas lesões de cada um dos fungos produtores de Actinomycose.

CONCLUSÃO

O autor insulou do pús de doentes com dacrio-canaliculite um Actinomyces que rotulou como o Actinomyces Silberschmidti. Estudou os caracteres morfológicos do cogumelo bem como o seu comportamento em variados meios de cultura. Agradece ao Prof. Hilton Rocha a oportunidade que lhe proporcionou para êste estudo.

CONCLUSION

The author insulated with the pus of the patients with Dacryo-Canaliculitis an Actinomyces which the haved as the Actinomyces Silberschmidti. He studies the morphologic of the fungus as also its behaviour under various methods of culture and the pathogenic effect.

BIBLIOGRAFIA

Aleixo, Antônio — "Caso de Esporotrichose Palpebral" — Arch. Min. de Derma-to-Syphil. e Sci. Afins, I(3):42, Setembro 1915.

Almeida, Floriano Paulo — "Mycologia Médica" — Cia. Melhoramentos de S. Paulo, 1931 — 1 volume.

Almeida, Floriano Paulo — "Mycoses Oculares" — Resenha Clínico-Ciêntifica, XIX(9):339-347, Setembro 1950.

Andrade, Cesário de — "Oftalmologia Tropical" — Rodrigues & Cia. Jornal do Comércio do Rio de Janeiro, 1940. 1 volume.

Araujo, Eduardo Luiz Ferreira — "Do Mycetoma Pedis no Brasil". Tése. Of. da Livr. Duas Américas, Pça. Inglaterra. Bahia, 1930.

Ash. J. E. & Spitz, S. — "Pathology of Tropical Diseases. Atlas" — W. B. Saunders. Co. Philadelphia-London, 1945.

Bedell, A. J. — "Cephalosporium Keratitis" — Amn. Ophth., Soc. 44:80-84, 1946.

Belfort, Fábio — "Um Caso de Blastomycose Conjunctival" — S. Paulo Médico, II(2):777-786, Novº 1929-Abril 1930.

Bennedict, W. L. & Iverson, H. A. — "Chronic Keratoconjunctivites associated With Nocardia" — Arch. Ophth., 32-88-92, Aug. 44.

Beurmann, De & Gougerot — "Les Sporotrichoses" — Librairie Félix Alcan, Paris, 1912.

Branco, M. C. — "Consideraciones sobre los Nuevos Casos de Micoses ocular" — An. Inst. Invest. Fis. Apl. a la Pat. Hum., 4:419-421, Vol. IV, 1942.

Bogliolo, L. & Neves, J. Aroeira — "Researches on the Etiological Agents of the American Blastomycosis" — Mycopathologia et Mycologia Applicata, VI(3):137-160, Junho 1952.

Brandis, — "Actinomycose du Canal Lacrymal Inférieur" — Soc. Belg. Opht, 26 Nov. 1922.

Briscкenhoff, A. J. — "Actinomycoses of Inferior Canaliculus Lacrimal" — Amn. J. Ophth., 25:978-981, Aug. 1942.

Bruce, Gordon M. & Khorazo, D. Socatcher — "Conjunctival Recovery of the Streptothrix in Cases of Superficial Puntate Keratitis — Arch. Opht., 27:294-298, Feb. 1942.

Brumpt, E. — "Précis de Parasitologie" — Masson & Cie., 2 vol., 1936.

Campos, Edilberto & Silva Filho, J. Ferreira — "Localização Palpebro-Conjuntival de Blastomycose" — Annaes de Oculistica do Rio de Janeiro, II:221-222, Junho 1930.

Castex, Mariano R. & Blanco, Manuel C. — "Blastomicosis Ocular Experimental" — An. Inst. Invest. Fís. Aplic. a la Pat. Hum., IV(4):185-196, 1942.

Castro, Orsini de — "Esporotrichose Ocular" — Arch. Min. Derm. Syph. 5(7):36.

Cavara, Vittoriano — "Tratato di Micopt. Umana" — Lib. Ed. Senesa. Siene, 1928.

Chalmers, A. J. & Christopherson, J. B. — "A Sudanese Actinomycosis" — Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 10:223-282, 1916.

Dekester, M. & Jeaume, G. — "Cas multiples d'une Blastomycose des Voies Lacrymales observée chez les Anes Dans la Région de Fez (Maroc)" — Bull. Soc. Pat. Exot., 16:478-480, 1923.

Deuchler, — "Zentralblat für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektions Krankheiten. Trichophyton Cerebriforme in Konjunkivalsekret" — Klin Mbl. Angenheik, Rev. 9/10 Band, S. 232, 649-661, 1930.

Dodge, Carrol William — "Medical Mycology" — St. Louis. The C. V. Mosby Co., 1935.

Duke-Elder, W. Stewart — "Text-Book of Ophtalmology" — (1941-1949). 5 vol. St. Louis. The C. V. Mosly Co.

Fonseca Filho, Olympio — "Parasitologia Médica" — Tomo I. Editora Guanabara. Rio, 1943.

FUCHS, Ernst & LALZMANN, Maximilian — "Tratado de Oftalmologia" — Trad. M. Renedo. Barcelona. Ed. Labor S. A., 1936.

GOHAR, N. — "Mycoses and Practical Mycology" — Baillere, Tindall and Cox. London, 1948.

GORDON, Morris A. — "A Key to the Human Mycosis" — Jour. of Bact., 63(3): 385-392, March 1952.

GREENBAUNN, Sigmund S. — "Isolated Favus of the Eyelid. Report of a Case" — Amer. Jour. of Opht., 7:6-7, vol. 7, 1924.

GRÜTER, W. — "Actinomyces of Superior Lacrimal Canaliculus" — Leitschuf J. Augoul., 79:447-510, Feb. 1933.

GUILLEMNIS, E. — "Actinomycose des Conduits Lacrymaux" — Tése, 1903.

HAGEDOARN, A. — "Concretions in a Lacrimal Canaliculus Caused by Actinomyces" — Arch. of Opht., 23:689-692, April, 1940.

HANFORD, S. McKee — "Blastomycosis of the Eye" — Arch. of Opht., 3:301, 1930.

HUDE, M. — "Sporotrichose Primitive de la Conjunctive: Localisation Secondaire Amygdalienne au cours du Traitement" — La Presse Médicale, pgs. 1528--1529, 1925.

JADASSOHN, W & REHSTEINER, K. — "Experimentelle Untersuchungen über die Infektion des Auges mit Achorionlinkeanum. I." — Z, Augenheilk 72:233, 1930. Rev. Zentralbl. (516). Bakt. Parasit. und Infek. B. 101, Leit 107, 1951.

JEAUME, G. & DEKESTER — "Isolement de l'Agent Pathogene de la Blastomycose des Voies Lacrymales" — Bull. Soc. Pathol. Exot., 18(2):124-127, 1925.

KALT, E. — Un Case de Faciel et Orbital Actinomycosis" — Bull. Soc. d'Opht. de Paris, 51:167-169, March 1929.

KIRKPATRICK, H. L. — "Conjunctival Infective Granulomatous Conjunctivitis Due to Actinobacillus" — J. Kansas M. Soc., 40:23-24 Jan. 1939.

LACAZ, Carlos da Silva — "Contribuição Para o Estudo dos Actinomycetos Produtores de Micetomas" — Tése de livre docência à Faculdade de Medicina da U. São Paulo, 1945. Tip. Rossolillo.

LACAZ, Carlos da Silva — "Contribuição para o Estudo das Micoses com Lesões ósteo-articulares" — Edigraf Ltda. S. Paulo. 1945.

LACAZ, Carlos da Silva — "Manual de Micologia Médica" — 1 vol. 1953. Editada pela Faculdade de Medicina de S. Paulo.

LANGERON, M. — "Mycose Oculaire Primitive Due au "Beauveria Brumpti" Bull. Med. Paris, 1-3:133, 1934.

LANGERON, M. — "Précies de Mycologie" — Masson et Cie. Editeurs. Paris 1945.

LAUDRIEN, M. — "Les Mycoses Oculaires" — Thèse de Paris, 1912.

LAUGE, O. — "De l'Actinomycose des Canalicules Lacrymaux" — La Clinique Opht., IV:5, 1898.

MACKIE, Thomas T.; HUNTER, George W. & WORTH, C. Brooke — "Manual of Tropical Medicine" — W. B. Saunders. Co., Philadelphia-London, 1945.

MALANIDI, C. & STYLIANAPOULO, M. — "Conjonctivite Cryptococcique Experimentale Chez le Chien" — C. R. S. Biol., 93:1081-1083, 1925.

MELLO, Milton Thiago de — "Estudos Sôbre o Rhinosporidium Seeberi" — Tése, 1946. Ed. Gráfica Muniz. Rio.

MENGUET, F. — "Actinomycose Primitive des Canaux Lacrymaux" — Thèse de Paris. Bouvalal Jouve Ed., 1907.

MILIAN, G. & LELONG — Kerato-conjunctivite Trichophytique de la Cornée" — Bull. Soc. Franç. Dermat., :25-26, Janvier 11, 1923.

MIRANDA, Waldemir — "Dermatomycoses Observadas em Pernambuco" — Tése de livre docência à Fac. Med. de Recife, 1932.

MUENDE, J. — "Conjonctivites as a Trichophytide Manifestation" — Brit. Jour. of Hematology, XLII(495):26-33, 1930.

NEVES, Aroeira J. and BOGLIOLO, L. — "Researches on the Etiological Agents on the American Blastomycosis — I — Morphology and Systematic of the Lutz Disease Agent" — Mycopathologia et Mycologia Applicata, 5(2-3): 133-142, 1951.

NEGRONI, P. — Morfologia microscopica y sistematica de los Actinomyces Symposium 7-II Setembre 1955 Pags. 13-19. Instituto Superiore di Sanitá. Roma.

OCHÔA, A. Gonzalez — "Micosis Oculares" — La Prensa Medica Mexicana pgs. 30-36, 30 fbro. 1953.

PAYENNEVILLE, J. & MARIE — "Un cas de Favus (Achorion Schoenlein) de la Paupière et du Cuir Chevelu Chez un Nourisson de 16 Jours" — Bull. Soc. Franç. Derm. et Syph., 35:567-569, 1928.

PESSÔA, Samuel Brausley — "Parasitologia Médica" — Ed. Renascença S. A. — São Paulo, 1946.

POLLACCI, Gino; NANNISSI, Arturo & CAPELLI, L. — "Miceti Patogeni dell'uomo e degli Animali" — Bologna, F.10.

RABELLO Filho, Eduardo — "O Têrmo Botrymycose Confunde 3 Sindromes de Natureza Diversa" — Brasil Médico, XLIII (15):399, 13 Abril 1929.

REDAELLI, Piero & CIFERRI, Raffaelle — "Trattato di Micopatologia Umana. Le Granulomatosi Fungine dell' uomo nelle Regioni Tropicali e Subtropicali" — S. E. F. Firenze, 1942 — Vol. V.

ROBERT, G. — "Actinomycose des Canalicules Lacrymaux" — Thèse de Paris. Jouve et Boyer Ed. 1899.

ROCHA, Hilton — "Cromomicose Conjunctival Primitiva" — Ophtalmus, III(2): 205-218, 1943.

ROCHA, Hilton e BONFIOLI, A. — "Micose Ocular" — Comunicação ao IV Congresso de Oftalmologia — Argentina — Mar del Plata, 1948. Actas del IV Congresso Argentino de Oftalmologia, pgs. 541-561.

SABOURAUD, R. — "Les Teignes" — Masson & Cie. Editeurs. Paris 1910.

SCHLEGEL, M. — "Aktinomykose. Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen" — 2.º Auflage. B. V. Sc. 301-390. Jena. Gustav Fischer 1913.

SICORDI, J. A.; REGUIES, U. & TALICE, B. N. — "Un Cas Intéressant d'Actinomycose Conjunctive-Sclerale d'Origine Traumatique" — Ann. Parasit., XLV(2): 171-176, 1936.

SICORDI, J. A.; STEWART, W. — "Text Book of Ophtalmology" — The C. V. Mosby Co., 1940.

SILVA, Linneu — "Sôbre um Caso de Úlcera Ectimatoide Pré-lacrimal Esporotrichosica Com Limphagite Gommosa da Face" — Brasil Medico, II(9): 1312.

SILVA, Linneu — "Caso de Esporotrichose Nodular Primitiva da Conjuntiva Bulbar da O. E. Com Localizações Cutâneas Consecutivas" — Arch. Min. de Dermato-Syph., 1(1): Maio de 1919.

SILVA, Linneu — "Caso de Esporotrichose Nodular do O. D. com Localizações Cutâneas Consecutivas" — Arch. Min. Dermato-Syph., e Sci. Afins, 1(1): 5, Maio 1919.

SKUINER, Charles E.; EMMONS, Chester W.; TSUCHIYA, Henry M. — "Molds, Yeasts and Actinomycetes" — New York. John Wiley & Sons, 1947.

STRONG, Richard P. — "Stitl's Diagnosis, Prevention and Treatment of Tropical Diseases" — The Blakiston Co., Philadelphia. 17th Ed., 1944.

TALICE, R. B. — "A Propos d'Un Cas de Concrétions Mycociques Primitives des Cannaux Lacrymaux." — Ann. de Parasit., 14(2):164-170, Mars 1936.

UNTHOFF, W. — "Beitrage Zur Pathologischen Anatomi des Auges. III Partielle Nekrose der Menschlichen Homhaut durch Ewanderung von Schimmipilzen" — Arch. F. Opht. B 29, 1928.

WAKSMAN, Selman H.; LECHEVALIER, Hubert A. — "Actinomycetes and Their Antibiotics" — The Williams & Wilkins Co. — Baltimore 1953.

WILSON, G. S. & MILES, A. A. — "Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity" — 3rd Edition, 2 vol. — Edward Arnold & Co. London, 1948.

Phoxocephalus capuciatus, nova espécie de Crustacea Amphipoda, Phoxocephalidae

por

Lejeune P. H. de Oliveira

(Com 2 estampas)

A posição da nova espécie *capuciatus* entre as espécies do gênero *Phoxocephalus* Sttebbing 1888, pode-se inferir pela chave abaixo:

CHAVE

1. — Sem olhos ..... *
1ª. — Com olhos 2
2. — Olhos totalmente desenvolvidos, antenas longas, com duas ou mais dezenas de artículos ..... *
2ª. — Olhos parcialmente desenvolvidos 3
3. — Zonas oculares arredondadas, como massas de pigmento branco, sem corpúsculos oculares; 3.º uropodo de tamanho normal, isto é, do tamanho do 1.º somito do pleon — *Phoxocephalus holbolli* (Kroyer); Oceano Ártico, mares frios.
3ª. — Zonas oculares irregulares, pigmentadas de negro, com numerosos corpúsculos oculares; antenas curtas; 3.º uropodo enorme, do tamanho dos 1.º mais 2.º, mais 3.º segmentos do pleon (P+Q+R, estampa 1) — *Phoxocephalus capuciatus* nova espécie.
*. — Não verificada na Brasil.

DESCRIÇÃO

Corpo fusiforme alongado, em vista lateral (Estampa I): o somito cefálico cônico pontudo, pouco mais longo que os 3 seguintes (A — G mais longo que H + I + K), o corpo é mais alongado no 2.º segmento do pereon, somito L.

Comprimento e proporções do corpo: incluindo o 3.º uropodo o animal mede pouco mais de 8 milimetros; fica mais de 1/8 por conta do 3.º uropodo (v), e também cêrca de 1/8 ocupado pelo cephalon (A — G). O pereon é a parte mais alargada, também é a mais longa,

com 1/3 do comprimento do corpo, dos seus somitos (K — O) o segundo, somito L, é o mais longo e o mais alto. Os 3 primeiros somitos do pleon ocupam 1/3 do comprimento do corpo (P + Q + R). Ds somitos do urosoma (S, T, V) ocupam uma parte menor, cêrca de 1/10 do comprimento do corpo.

Placas laterais. — A 1.ª placa, do 1.º gnatópodo (H, estampa 1 e h-1) é pequena, sub-paralelogrâmica, a 2.ª placa pouco maior que a 1.ª, e a 3.ª pouco maior que as duas anteriores.

4.ª placa, L, do 2.º pereiópodo é a mais alta e a mais larga, arqueada e lisa inferiormente mede 1.1 mm x O.7 mm.

Placas 5.ª, 6.ª, 7.ª diminuindo progressivamente, sendo a 7.ª a mais baixa (somito 0).

Pleon. — As margens látero-inferiores são: em P, levemente arqueada, com 4 espínulas; em Q tendo na frente uma projeção lobiforme arredondada, seguindo inferiormente um arqueado quase reto, e posteriormente em ponta. O 3.º segmento do pleon (R) em ponta póstero-inferiormente, margem posterior bisinuada. Urosoma com os somitos curtos, imbricados, sendo o 3.º somito do urosoma o menor (somito V).

Cefalon em forma de capuz cônico, (o nome da espécie tirado de *Cappuccio, capputtiatus, capuciatus*), face superior lisa, com uma ponta não aguçada, pequena, rostral. Zonas oculares: a direita com cêrca de uma dúzia de corpúsculos oculares irregularmente dispostos e zona esquerda com cêrca de duas dúzias de corpúsculos.

I antena, curta, menor que o comprimento do cefálon com o pedúnculo mais curto que o flagelo. Flagelo acessório mais curto que o flagelo principal, alcançando até ao 3.º artículo dêste (b-6). O primeiro artículo (b-1) é globoso, com uma ponta lisa de um lado e uma cerda de outro lado, é o maior. Os 2.º e 3.º artículos do pedúnculo (b-2, b-3) são robustos, sub-retangulares, margens apicais onduladas; b-3 tem um lobo arredondado cerdado e uma ponta anteriormente, e duas cerdas longas posteriores. Flagelo principal de posição postero-inferior, tendo 6 artículos (b-3 até b-9), sendo o primeiro artículo flagelar b-4 o mais longo e mais robusto.

II antena, pouco mais curta que a I, com 10 artículos, sendo os 3 primeiros (c-1 até c-3) reunidos em uma formação peduncular mais ou menos rígida. A articulação c-3 com c-4 é oblíqua, em meia esquadria, os outros artículos que seguem (c-4 até c-10) fazem um ângulo quase reto com a formação peduncular. De c-4 até c-10 são arqueados, quase em linha reta. Os mais robustos são c-4 e c-5 e os restantes mais finos, como se fôssem flagelos dêstes.

Mandíbula. — Com o molar principal em planalto, áspero, com duas denteações externas próximas ao palpo, e duas denteações arredondadas internas junto à linha mediana. Molar secundário com 6 dentículos arredondados. Fileira de 5 espinhas em clava; palpo tri- articulado, sendo o 1.º artículo curto, 2.º e 3.º de mesmo tamanho (cêrca de 4 vêzes mais longas que o 1.º artículo); 4 cerdas lisas apicais.

I Maxila — Lâmina interna (e-1) arredondada e lisa; lâmina maxilar (e-2) com 10 espinhas sendo 5 serrilhadas, 2 espinuladas, 1 tridente, e 2 forcados; palpo uniarticulado (e-3) com 4 cerdas apicais lisas.

Maxilípodo. — Palpo longo, 0.33 mm, o segundo artículo (g-5) o mais longo e o mais largo, margem interna cerdada uniformemente, margem externa com 2 espínulas. III artículo do palpo (g-6) sub-ovóide, curto, cêrca de metade do comprimento do artículo precedente, cerdas dispostas apicalmente de um e de outro lado do dáctilo.

Dáctilo (g-7) liso, cônico, quase do mesmo comprimento que g-6. Lâmina interna (g-3) alcança até ao 1/4 inferior do 3.º artículo do palpo (g-5).

Gnatópodos pequenos, semelhantes, aproximadamente de mesmo comprimento que o cefalon. São fracos e são fracamente quelados. I gnatópodo — a sua placa lateral (h-1) com 3 cerdas curtas inferiores e posteriores. O 2.º artículo (h-2) é o mais longo, de mesmo comprimento da placa, mais dilatado distalmente, com 2 cerdas antero inferiores em uma sub-lobulação. Os artículos 3.º e 4.º pràticamente de mesmo comprimento, e cêrca de 1/3 da placa, com uma cerda lisa inferior. O ísquio, 4.º artículo, h-4, sub-cônico; carpo, h-5, cilíndrico com 3 cerdas ínfero-posteriores. O propodo, 6.º artículo, h-6, mais cilíndrico que fusiforme, seu 1/3 anterior leva o dáctilo, margem ínfero-posterior com 6 cerdas e margem articular com 8 espínulas. Dáctilo (h-7) se assentando justo e todo ao longo do propodo, com 3 cerdas sub-medianas, e espínulos na margem articular.

II gnatópodo. — Semelhante ao I mas um pouco maior, seus artículos medem: 1.º (a placa lateral) 0.450 mm; 2.º 0.410; 3.º 0.160; 4.º 0.160; 5.º 0.250; 6.º 0.420; 7.º 0.140 mm.

Pereiópodos. — Segundo a semelhança se dispõem em 3 grupos, os dois primeiros, k e l, os menores tendo dáctilo recurvo; o terceiro, m, não tem nenhum artículo dilatado e tem dáctilo reto; os dois últimos, n e o, possuem as coxas e ísquios dilatados e sub-ovóides (n-2, n-4; o-2, 0-4).

I par de pereiópodos. — Vesícula branquial ovóide, curta, de mesmo comprimento que o ísquio, tendo 4 cerdas curtas na margem, o seu apêndice ciliar é cilíndrico, estreito, recurvo, com 5 cerdas lisas, sua extremidade alcança o mesmo ponto que o saco branquial; o 2.º artículo — coxa — alcança a margem da placa lateral (k-2) tem 2 tubérculos cônicos, cada um com 2 cerdas lisas na parte póstero-inferior; o 3.º artículo (base, K-3) curto; o 4.º artículo, k-4, elipsóide, com 1 tufo de cerdas no ápice anterior e 5 cerdas igualmente espaçadas na margem posterior; mero — k-5 — semi-eliptico, com 3 bastonetes retos, longos, postero inferiores; propodo (k-6) cilíndrico, com 2 cerdas finas pequenas inferiores sendo uma anterior outra posterior, mais 4 cerdas mais grossas na margem articular; o dáctilo (k-7) é recurvo, liso, se articula sub-queladamente com o 6.º artículo.

II par de pereiópodos. — Semelhantes ao I, mas as peças um pouco maiores, a vesícula branquial é maior e sub-paralelogrâmica, a lâmina

ciliar é arqueada, mais robusta, e tem 7 cerdas; o mero (L-5) só tem 2 bastonetes retos e grossos.

III par de pereiópodos. — O 1.º artículo, m-1, placa lateral, com superfície posterior arredondada em lobo; vesícula branquial semelhante à do par anterior, lâmina ciliar em arco com 10 cerdas longas igualmente espaçadas; o 2.º artículo, coxa, m-2, é o mais longo e mais dilatado em baixo, tem 3 cerdas lisas no canto ínfero-posterior; os 4.º, 5.º e 6.º são aproximadamente de mesmo comprimento, com os grupos de cerdas inseridos em tufos de disposição cônica; o dáctilo é um bastão reto e áspero.

IV par de pereiópodos. — Vesícula branquial ovóide, menor que a do par anterior; coxa (n-2) ovóide, grande, margem posterior lisa, margem anterior com 3 cerdas no 1/3 inferior e um lobo antero-inferior com 3 cerdas; artículo basal (n-3) pequeno, sub-retangular, com 2 cerdas apicais distais anteriores; o ísquio (n-4) tem margem reta anterior, 3 ressaltos, no 1.º e no 2.º ressalto inserem-se 2 tufos de cerdas, no mediano 2 cerdas e mais 3 cerdas fora do ressalto; a parte posterior apresenta-se em lobo arqueado que desce muito alcançando os 2/3 do mero e tem 10 cerdas flexíveis; o mero (n-5) com 4 tufos de cerdas duras anteriores na margem reta e a margem posterior arqueada, nos 2/3 inferiores com 10 cerdas duras, algumas 2 a 2; o propodo, ou 6.º artículo, n-6, é reto, aproximadamente de mesmo comprimento que os 4.º e 5.º artículos, é sem lobulação e cilíndrico, tornando-se mais fino depois da 1.ª, e da 2.ª inserção de cerdas; tem 4 cerdas e 1 espinho apicais; o 7.º artículo, dáctilo é em forma de florete.

V par de pereiópodos — De mesmo comprimento que todo o pereon (somitos K até O); o seu primeiro artículo, a placa lateral é a menor das sete placas; a coxa (o-2) é o artículo mais largo, margem anterior arredondada com 4 espinhos curtos e 2 espinhos em forma da letra V no canto antero-inferior, margem posterior com 1 lobulação lisa e subquadrada; a base, 3.º artículo, o-3, sub-retangular, margem inferior com canto anterior com 1 cerda e com canto posterior com 1 lóbulo; o ísquio (o-4) é sub-ovóide, com 5 cerdas na margem anterior, e um tufo de 3 cerdas no canto inferior, margem posterior pouco arqueada com 6 grupos de espinhos dois a dois em forma da letra V; o mero (o-5) é de mesmo comprimento que o ísquio, sendo 2/3 do comprimento do propodo, mas de forma cilíndrica, com 3 tufos de cerdas em cada margem; o propodo (o-6) é sub-cilíndrico, o dáctilo (o-7) agudo, ligeiramente arqueado tão longo quanto o mero.

I par de urópodos curto, do mesmo comprimento do pedunculo do II urópodo, tanto quanto o 3.º somito do pleon (P), pedúnculo com uma espinha recurva, irregular, apical, e com uma espinha em lança frameada interna sub-apical; ramo uropodal externo pouco maior que o interno; cada um dos ramos apresenta duas espinhas em lança frameada internas, e 2 a 3 espinhas comuns apicais.

II par de urópodos cêrca de duas vêzes o comprimento do I par; no somito T há dois espinhos em foicinha no canto distal inferior; pedunculo uropodal uniarticulado, com dois espinhos em foicinha apicais;

os dois ramos são mais compridos que o pedúnculo, sendo ainda mais comprido o inferior, ambos com 5 espinhos apicais; os dois reunidos não chegam à largura do pedúnculo.

III par de urópodos muitíssimo longo, do comprimento dos 3 somitos do pleon (P + Q + R) de pedúnculo sub-cônico, dando inserção ao ramo superior muito curto, e o ramo superior longo, com dois artículos, e no artículo apical 3 bastonetes retos inferiores e um bastonete apical longo.

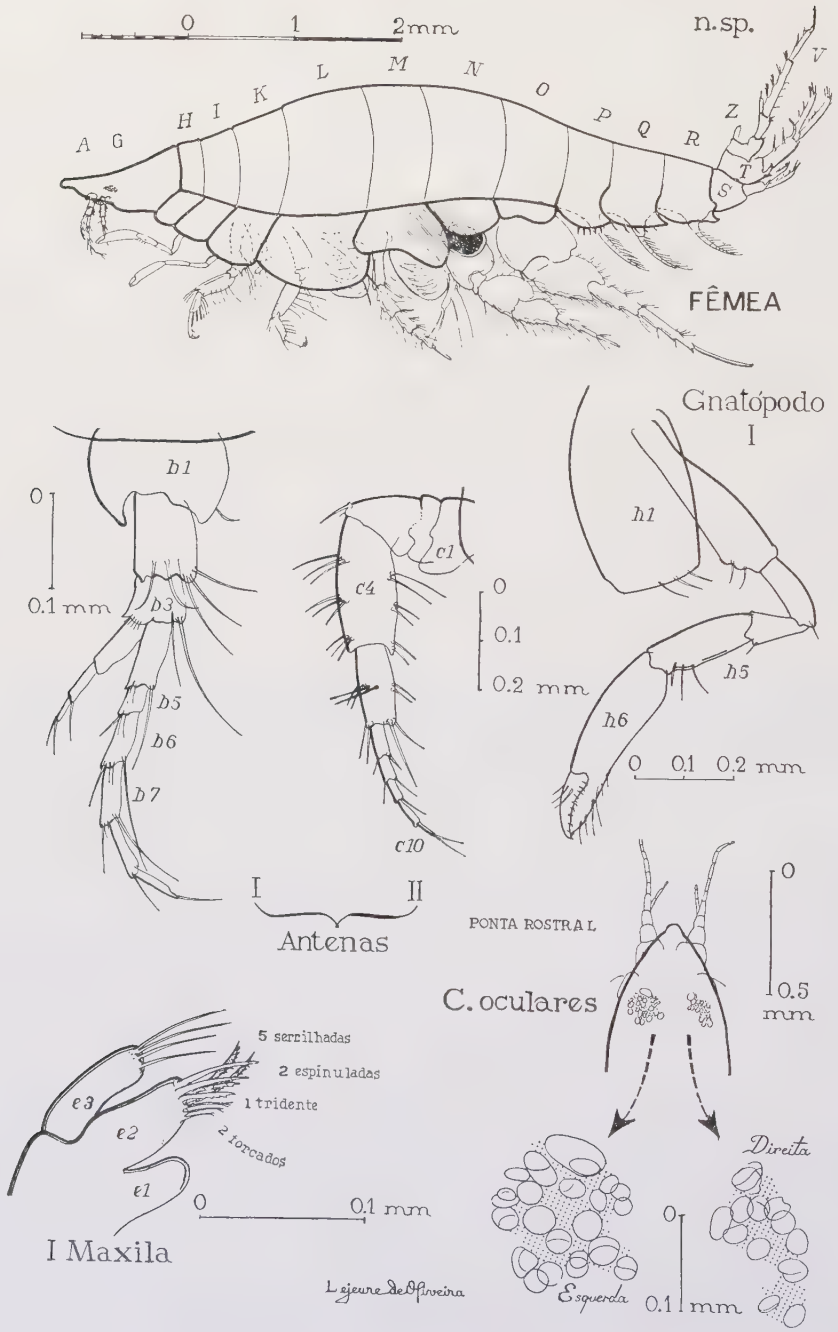
Ovos elipsóides, lisos, achatados ligeiramente nas duas pontas, medem 0.45-0.5 mm por 0.32-0.4 mm.

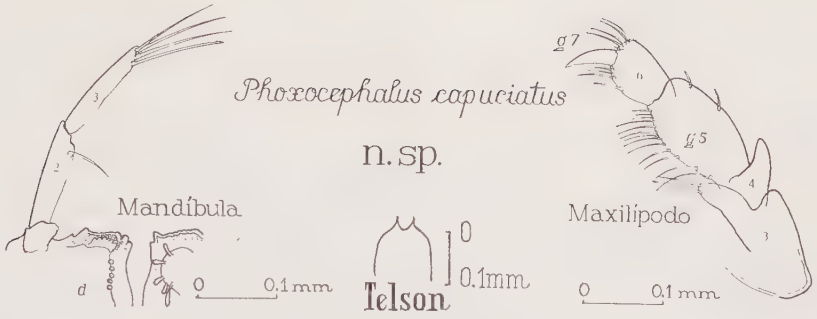
Macho. — Foi descrita a fêmea, machos não encontramos.

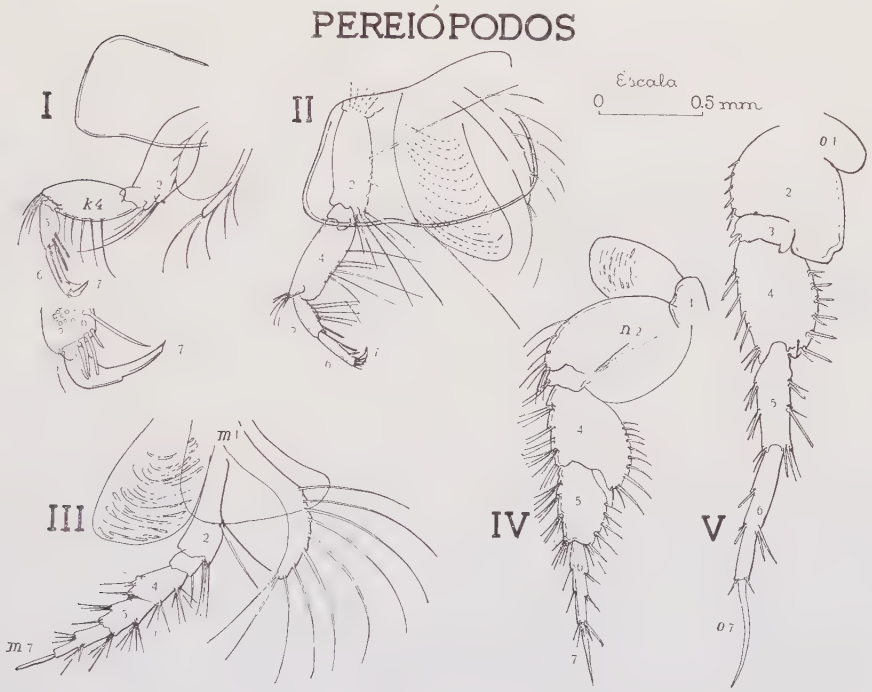
Distribuição geográfica. — Baía de Guanabara, Corôa do Chapéo de Sol; 22º 52' Lat. Sul, 43º 11' e meio Long. W. Greenw. 4 até 5 metros de profundidade. Encontrado junto à *Ampelisca soleata* descrita nas Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1955, (capturada em junho de 1951, tipo de 13 de junho de 1951.)

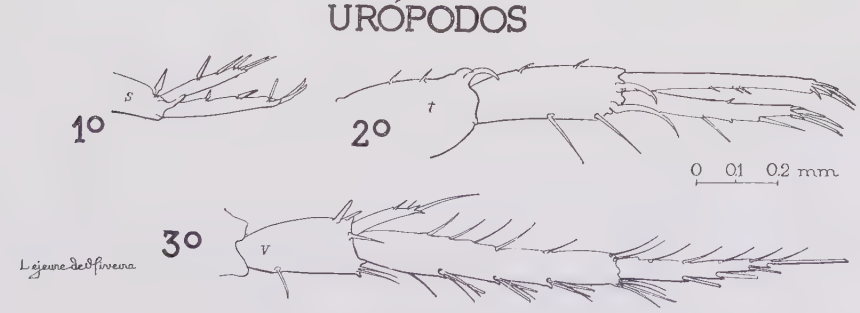
Material. — Catálogo da Estação de Hidrobiologia n.º 3355 até 3365, o tipo que foi dissecado e acha-se montado em 11 lâminas microscópicas.

Phoxocephalus capuciatus




Phoxocephalus capuciatus
n. sp.
Mandíbula
Maxilípodo
Telson
0 0.1mm
0 0.1 mm
0 0.1mm


PEREIÓPODOS
I
II
III
IV
V
Escala
0 0.5 mm


UROPODOS
1º
2º
3º
0 01 02 mm
Lejeune de Oliveira

Isolamento reprodutivo entre Australorbis glabratus e A. nigricans

por

W. Lobato Paraense e Newton Deslandes

Em publicação anterior (Paraense e Deslandes 1955a) foi feito um estudo das características morfológicas de uma população de *A. glabratus* da cidade de Belo Horizonte. Em trabalho subseqüente (Paraense e Deslandes 1955b) foram feitas observações semelhantes em uma população de *A. nigricans* da cidade de Itajubá, sendo comparados os dados referentes às duas populações. Entre as diferenças encontradas foi dada especial importância àquelas observadas na região renal e na concha, que permitiram considerar as referidas populações como pertencentes a espécies morfològicamente distintas.

Como complemento à separação das duas espécies apresentamos agora os resultados de algumas provas de isolamento reprodutivo.

MATERIAL E MÉTODO

Nas provas de cruzamento foram usados caramujos da geração F_1, descendentes de espécimes capturados no campo, nas cidades de Santa Luzia (*A. glabratus*) e Itajubá (*A. nigricans*). Estas cidades ficam no Estado de Minas Gerais, distando 350 Km entre si. A distância entre Belo Horizonte e Santa Luzia é de cêrca de 30 Km. A co-especificidade dos *Australorbis* de Santa Luzia e Belo Horizonte foi determinada prèviamente pela comprovação morfológica e por provas de cruzamento.

Os espécimes utilizados foram criados em isolamento, reproduzindo-se por autofecundação até o início das provas.

O método de trabalho foi descrito em publicação anterior (Paraense 1955), consistindo essencialmente em reunir durante certo tempo um indivíduo albino de uma espécie e um pigmentado homozigoto da outra espécie, e verificar se na descendência imediata do albino aparecem embriões pigmentados, indicadores de hibridação, ou embriões exclusivamente albinos, indicadores de isolamento reprodutivo. Para maiores esclarecimentos recomendamos a leitura do trabalho referido.

Foram usados 10 pares de caramujos, que permaneceram reunidos durante o prazo mínimo de 23 e máximo de 84 dias. Em seis provas os pares eram formados de *nigricans pigmentado* x *glabratus albino*, em quatro de *glabratus pigmentado* x *nigricans albino*. Depois de cada prova o espécime albino de cada par era reunido a um espécime pigmentado de sua própria população, para comprovação de sua capacidade de fecundação cruzada.

RESULTADOS

Os 10 espécimes albinos produziram em conjunto 2.786 ovos viáveis, que deram embriões exclusivamente albinos, indicando assim a ausência de hibridação entre as duas espécies em estudo. Os 10 espécimes pigmentados produziram 2.875 ovos viáveis, que de acôrdo com a expectativa desenvolveram embriões pigmentados. Além dos totais de ovos que acabamos de referir, foram produzidos em ambas as séries ovos inviáveis.

Depois destas provas, os albinos reunidos a espécimes pigmentados de suas próprias populações passaram a dar descendentes pigmentados, indicando cruzamento fértil.

DISCUSSÃO

Nos trabalhos antes referidos (Paraense e Deslandes 1955a, 1955b) foram apresentados fundamentos de ordem morfológica para a separação das espécies *glabratus* e *nigricans*. Deixando de lado certas diferenças, referentes à pigmentação e ao comprimento do corpo e dos diversos órgãos da genitália (que constituem caracteres sujeitos a variação contínua, por isso mesmo muito provàvelmente indicadores de correlação adaptativa), cujo valor diagnóstico só poderá ser devidamente apreciado quando possuirmos conhecimentos suficientes sôbre a variação de grupo, restam alguns caracteres de valor diagnóstico menos discutível. São êles, para a concha, a largura e a presença ou ausência de carenas; e, para o corpo, a presença ou ausência de crista na região renal.

Até agora examinamos com maior detalhe apenas as duas amostras das populações de *glabratus* e *nigricans* acima referidas. Além destas, porém, temos observado inúmeros espécimes de outras populações, sendo-nos possível, assim, considerar criticamente os caracteres a que atribuimos valor diagnóstico.

A maior largura e a carenação da concha do *nigricans* são aspectos observados na grande maioria das populações. Trata-se, entretanto, de caracteres também sujeitos a variação contínua, e podemos encontrar populações dificilmente distinguíveis com base nos mesmos. Na falta de outros elementos, e dada a grande semelhança entre as respectivas genitálias, teríamos preferido considerar as duas formas estudadas como membros de uma única espécie politípica. O carater que nos levou a considerá-las como espécies distintas foi a presença de crista

na região renal do *glabratus*, estrutura esta que nunca encontramos no *nigricans*. Temos aqui um carater alternativo, entre cujas fases nunca encontramos intergradação em inúmeros espécimes de outras populações. Deixamos para a presente oportunidade a verificação da validade do critério morfológico, submetendo-o à prova fisiológica do cruzamento entre as duas formas. Como partidários do conceito biológico de espécie, as nossas dúvidas provinham do fato de nossa experiência pessoal até agora fazer-nos admitir que se trata de formas alopátricas.

Como as provas de cruzamento deveriam ser feitas em organismos hermafroditas capazes de autofecundação, foi necessário investigar prèviamente, em ambas as formas, as relações entre os processos de autofecundação e de fecundação cruzada. Esta investigação foi feita sôbre base genética, empregando-se o fator recessivo de albinismo como marcador genético no *A. glabratus* (Paraense 1955). Observações adicionais, não publicadas, foram feitas com o *A. nigricans*, sendo obtidos resultados semelhantes. Com base nos referidos resultados foi-nos possível realizar e interpretar as provas de cruzamento que constituem o assunto dêste trabalho. Estas provas demonstraram que, reunindo-se aos pares um indivíduo de cada população, cada um dêles conserva-se em estrito isolamento reprodutivo, dando origem a seus próprios descendentes exclusivamente pelo processo de autofecundação.

O isolamento reprodutivo nestes casos não é de natureza etológica, visto como observamos freqüentemente a côrte interespecífica. Não deve também depender de fatôres mecânicos, em vista da grande semelhança do complexo peniano e da vagina em ambas as espécies. Até agora não observamos o ato da cópula propriamente, talvez porque não nos tenhamos empenhado especialmente nesse propósito. A esterilidade interespecífica no caso em questão deve pois resultar de alguma forma de isolamento gamético ou citogenético.

Em tôdas as provas de cruzamento foram produzidos ovos inviáveis em proporções diversas. Consideramos como tais aquêles ovos cuja evolução foi interrompida pela morte do embrião antes da formação da antena, tornando impossível reconhecer a região dos olhos. É provável que entre êles houvesse espécimes híbridos, mas no caso seriam híbridos inviáveis, cuja ocorrência não alteraria as nossas conclusões. Não obstante a grande variabilidade individual quanto à produção de inviáveis, seja por autofecundação ou por cruzamento, parece-nos que êles são produzidos em maior número por autofecundação. Teòricamente, aliás, é de esperar que assim aconteça, pois a autofecundação conduz à homozigose, e portanto a um aumento da freqüência de combinações deletérias.

O isolamento reprodutivo revelado neste trabalho não deve resultar da separação geográfica entre duas populações da mesma espécie, visto como temos obtido (experiências a serem publicadas) cruzamentos férteis entre populações co-específicas, de *glabratus* como de *nigricans*, separadas por distâncias muito maiores que as referidas neste trabalho.

SUMÁRIO E CONCLUSÃO

Foram feitas provas de cruzamento entre espécimes de uma população de *A. glabratus* e de outra de *A. nigricans,* utilizando o fator de albinismo como mercador genético. O resultado dessas provas revelou completo isolamento reprodutivo entre ambas, permitindo separá-las como boas espécies de acôrdo com o critério biológico.

REFERÊNCIAS

Paraense, W. L. — 1955 — Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* (em publicação).

Paraense, W. L. e N. Deslands — 1955a — Observations on the morphology of *Australorbisglabratus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 53 (1):87-103.

Paraense, W. L. e N. Deslandes — 1955b — Observations on the morphology of *Australorbis nigricans*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 53(1):121-134.

Reproductive isolation between Australorbis glabratus and A. nigricans

by

W. Lobato Paraense e Newton Deslandes

In a previous study (Paraense and Deslands 1955a) some morphological characteristics of *A. glabratus* were analysed in a population at Belo Horizonte. A further similar analysis (Paraense and Deslandes 1955b) was made on a population of *A. nigricans* at Itajubá, the data concerning both populations having been compared in the latter work. Of the existing differences, those observed in the renal region and shell were emphasized, as they give morphological support for specific separation of the mentioned populations.

As a complementary demonstration of specific distinctness we now present the results of some tests of reproductive isolation.

MATERIAL AND METHOD

The tests were performed with F_1 snails descending from field-collected specimens from Santa Luzia (*A. glabratus*) and Itajubá (*A. nigricans*). These cities, situated in the State of Minas Gerais, are separated from each other by a distance of 350 Km. The distance between Belo Horizonte and Santa Luzia is about 30 Km. The conspecificity of the *Australorbis* from Santa Luzia and Belo Horizonte was previously determined by morphological evidence and interfertile matings.

The experimental snails were reared in isolation, reproducing by self-fertilization up to the beginning of the tests.

The testing method was described in a previous paper (Paraense 1955). In short, a homozygous pigmented snail of the one, and an albino of the other species were confined together for some days, the eggs then laid by the albino being examined in order to observe whether albino or pigmented embryos developed from them. In these conditions, pigmented embryos would be produced by cross-fertilization, thus indicating hybridization; whereas albino embryos, being produced by self-fertilization, would indicate reproductive isolation.

Ten such tests were performed, the snails remaining together for 23 to 84 days. Four tests were made with *pigmented glabratus* x *albino nigricans,* the six others with *pigmented nigricans* x *albino glabratus.*

After completion of a test, the albino specimen of the couple was paired with a pigmented snail from its own population, in order to check its self-fertilizing ability.

RESULTS

The 10 albinos produced 2,786 viable eggs, which gave albino embryos exclusively, thus indicating a failure of hybridization between the two species under investigation. The pigmented specimens produced 2,875 viable eggs from which, as expected, exclusively pigmented embryos developed. In addition to the viable eggs just mentioned, inviable ones were produced in both series.

After these negative tests, the albinos were fully fertilized by the pigmented specimens of their own populations, as demonstrated by the production of pigmented progeny.

DISCUSSION

In the previously mentioned papers (Paraense and Deslands 1955a, 1955b) we recognized the specific distinctness of *glabratus* and *nigricans* on a purely morphological basis. If certain differences are put aside, such as those concerning pigmentation and length of body and genital organs (which are characters liable to continuous variation, thus very likely denoting adaptive correlation), the diagnostic value of which cannot be fully appreciated until a sufficient knowledge of group variation becomes available, there remain for consideration some diagnostically less questionable characters. These are, as regards the shell, its width and the existence or absence of keels; and, as to the body, the existence or absence of a ridge in the renal region.

Till now we have examined in greater detail only the two samples from the above mentioned populations of *glabratus* and *nigricans*. In addition to them, however, we have observed innumerable specimens from other populations, thus being able to examine critically the characters to which we assign diagnostic value.

The greater width and the carination of the shell in *nigricans* are features observed in the majority of populations. But these characters are also liable to continuous variation, so that populations may be found wich hardly are to be distinguished on those bases exclusively. If other characters were lacking, and owing to the great likeness between the genitalia of the two compared forms, we would have found it preferable to assign them to a single polytypic species. The character that led us to consider them as separate species was the presence of a ridge in the renal region of *glabratus,* this structure being consistently lacking in *nigricans*. So we have an alternative character, the phases of which have never shown intergradation in the innumerable specimens examined from other populations. We deferred for the present opportunity the verification of that morphological criterion, through the physiological test of intercrossing. As adherent to the biological

species concept, our doubts arose from the fact that our present experience leads us to admit that we are dealing with allopatric forms.

Since the crossing tests should involve hermaphroditic organisms which are able to self-fertilize, it became necessary to investigate previously in both forms, the relations between the processes of self-and cross-fertilization. That investigation was made on a genetical basis, by using the recessive factor of albinism as genetic marker in *A. glabratus* (Paraense 1955). Further unpublished observations on the same subject and with similar results were made in *A. nigricans*. Those results supplied us with a clue for the interpretation of the tests of reproductive isolation in planorbids. In the present experiments the tests showed that, after coupling two specimens, one from each population, each of them maintains itself in strict reproductive isolation, giving origin to its own descendants exclusively by self-fertilization.

The reproductive isolation here observed does not depend on ethological factors, since interspecific courtship was frequently observed. Moreover, it should not be ascribed to mechanical factors, since the penial complex and vagina are morphologically similar in both species. As yet we have not observed the act of copulation proper, perhaps because we did not persevere in such purpose. Interspecific sterility in these cases should depend on some kind of gametic or cytogenetic isolation.

A varying proportion of inviable eggs were produced in every crossing test. We consider as inviable the zygotes which died before development of the antennae, thus rendering it impossible to distinguish the eye regions. It is probable that hybrid specimens occurred among them, but they would be inviable hybrids, thus in no way invalidating our conclusions. In spite of great individual variability as concerns the formation of inviable products, both by self- and cross-fertilizing snails, our records apparently indicate that their frequency increases in self-fertilization. Theoretically, such a fact is to be expected, as self-fertilization leads to homozygosity, and thus to an increased occurrence of deleterious combinations.

The reproductive isolation revealed by the present experiments should not result from geographic separation between two conspecific populations, since we have obtained (to be published) interfertile crosses between two conspecific populations of either *glabratus* or *nigricans* separated by geographic gaps much wider than those referred to in this paper.

SUMMARY AND CONCLUSION

Crossing experiments were made between specimens from one population of *A. glabratus* and another of *A. nigricans,* the factor of albinism having been used as genetic marker. The results of those experiments revealed a complete reproductive isolation between both populations, thus indicating their specific distinctness according to the biological criterion.

Primeira relação sistemática dos Acridoideos do Brasil

por

José Liebermann
(Buenos Aires, Argentina)

INTRODUÇÃO

A Acridiologia moderna é capítulo fundamental da Entomologia Aplicada, e conta com vasta bibliografia sôbre problemas de sistemática, biologia, ecologia, zoo-geografia e genética. Na América do Sul os estudos acridiológicos não alcançaram a intensidade obtida em outros continentes e, ainda hoje, pode afirmar-se que o conhecimento de sua acridiofauna é incompleto. Excetuando-se algumas obras de caráter geral, como a "Biologia Centrali Americana", em cujos dois excelentes tomos sôbre *Orthoptera* aparecem muitos espécimens da região setentrional da América do Sul, e o Catálogo Sinonímico de Ortópteros de Kirby (1910) sôbre as coleções do Museu Britânico, são encontrados apenas trabalhos isolados, na maioria sôbre sistemática, cuja organização não tenha sido realizada. Os autores que mais trabalharam sôbre Acridiologia neotropical são Henry de Saussure, Lawrence Bruner, Morgan Hebard e J. A. G. Rehn e, em menor escala, J. G. Audinet Serville, Carlos Stal, I. Bolívar, A. Gerstaecker e F. Walker. Quanto ao Chile, torna-se necessário citar E. Blanchard e R. A. Philippi. Importantes são as contribuições de M. Hebard relativamente aos acridios da Colômbia e Venezuela, a monografia de C. de Mello Leitão sôbre os Proscópidos, bem como as de S. de Toledo Piza Jr. e Lauro Travassos F.º sôbre *Cheleutoptera* e *Proscopiidae* e sôbre *Mantodea,* respectivamente. Diante do interêsse evidenciado na maioria dos países do mundo quanto ao estudo de sua fauna acridiana, mantiveram-se inativos os países da América do Sul, sendo que os trabalhos existentes foram publicados no estrangeiro. O único país sulamericano que mantém um laboratório especial para Acridiologia é a Argentina. Apenas o Chile e a R. O. do Uruguai contam com catálogos de seus acrídeos. Nesta relação preliminar, queremos proporcionar uma idéia aproximada da vasta acridiofauna do Brasil. Os dados mencionados não se devem ape-

nas à bibliografia, mas também aos copiosos materiais que o autor pôde examinar e que lhe foram remetidos por gentileza de colegas do país vizinho. Foi graças a êsses materiais que se tornou possível formarmos uma idéia sôbre a extraordinária riqueza da fauna acridiana do Brasil, da qual apresentamos aqui a primeira lista geral. A maioria dos espécimens, já determinados, foram devolvidos às entidades remetentes, tendo sido conservados em nossa coleção apenas alguns exemplares curiosos. Desta forma, foi-nos possível estudar diversos acrídeos brasileiros nas coleções que nos remeteram, para sua respectiva determinação, os doutores Max Beier e Richard Ebner, de Viana, bem como outros colecionados há alguns anos pela Dra. W. Hanke. Expressamos, também, nossos agradecimentos aos amigos brasileiros que nos favoreceram com suas remessas, especialmente ao Dr. Herman Lent, ao Engenheiro-Agrônomo Aristóteles d'Araujo e Silva, ao Engenheiro-Agrônomo Osvaldo Baucke, ao Engenheiro-Agrônomo Victor Majo de Maia, ao Prof. Mário Bezerra de Carvalho, ao Engenheiro-Agrônomo D. C. Redaelli e ao Engenheiro-Agrônomo Jefferson F. Rangel pelos dados fornecidos relativamente à importância econômica de algumas das espécies de acrídeos sedentários que vivem no Brasil. Os trabalhos correspondentes aos materiais estudados foram publicados na Revista Brasileira de Biologia, na Revista de Entomologia, no Boletim Fitosanitário do Brasil e na Revista de la Sociedad Entomológica Argentina e figuram na bibliografia desta contribuição. Como trabalhos isolados, de importância sôbre a acridiofauna brasileira, devem ser citados os de L. Bruner e J. A. G. Rehn. Do primeiro, os mais importantes são "South American Acridoidea", I (Ann. Carnegie Mus., 1911, VII:1-147) e II (l. c., 1913, VIII:423-506). Do Dr. Rehn, entre outros, contêm dados fundamentais os seguintes: 'Acrididae from São Paulo, Brasil, with descriptions of a new genus and three new species" (Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., 1908, LX:12-23); "On Brazilian Grashoppers of the Subfamilies Pyrgomorphinae and Locustinae (Acridinae of authors)" (Proc. U. S. Nat. Mus., 1909, XXXVI:109-163); 'Dermaptera and Orthoptera of Southeastern Brazil" (Trans. Amer. Ent. Soc., 1918, XLIV:181-222); "Records and Descriptions of Brazilian Orthoptera" (Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., 1920, XXXIV:214-293); "A Revision of the Neotropical Euthymiae" (Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., 1938, XC:41-102); "A new genus and four new species of Acrididae from Brazil and Argentina" (Trans. Amer. Ent. Soc., 1939, LXV:193-208) e "Records and descriptions of Pyrgomorphinae with critical notes on certain Genera" (Trans. Amer. Ent. Soc., 1953, LXXXIX:99-150). Muitos outros trabalhos serão apresentados na parte especial desta nota.

A acrideofauna brasileira compreende representantes das famílias *Tetrigidae, Proscopiidae, Eumastacidae, Pyrgomorphidae, Ommexechidae, Romaleidae, Catantopidae* (Catantopinae e Pauliniinae) e *Acrididae* (Acridinae e Oedipodinae), chegando suas espécies a cêrca de quatrocentas. Não figuram neste trabalho as famílias *Proscopiidae,* por ser muito recente a monografia de Mello-Leitão, e *Acrididae,* por estar incluida no "Orthopterorum Catalogus", do Museu de História Natural de Viena, obra esta atualmente no prelo.

Para terminar esta breve introdução, mencionaremos a seguir o estado atual da sistemática de *Orthoptera*, cujas normas seguimos. Isolados, definitivamente, os grupos heterogêneos que integravam a antiga ordem, ficou esta, em sentido estrito (sensu stricto), reduzida aos *Saltatoria* de antes, dentro da superordem *Orthopteroidea*, a qual também contém, como ordens interdependentes, *Netoptera* e *Cheleutoptera* (antes chamadas *Grylloblattoidea* e *Phasmatoidea*. Em outra superordem, a dos *Blattopteroidea* (antigos *Oothecariae*), figuram *Blattoidea* e *Mantoidea*, como ordens independentes. Quanto aos *Orthoptera* (s. s.), ficam divididos em duas sub-ordens, *Ensifera*, Chopard, 1920, com as super-famílias *Gryllacridoidea*, *Prophalangopsoidea*, *Tettigonoidea* e *Grylloidea* e *Caelifera*, Ander, 1939, com as super-famílias de *Tridactyloidea* e *Acridoidea*. Contém a primeira as famílias *Tridactylidae* (Tridactylinae e Rhipipteryginae) e *Cylindrachatidae*, com um gênero australiano e outro patogênico. Das dez famílias de *Acridoidea* faltam apenas duas na acrideofauna do Brasil, na qual não se encontram as *Pneumoridae* e as *Pamphagidae*.

ACRIDOIDEA, Burmeister, 1836

Tetrigidae, Uvarov, 1940

Vasta e extraordinária família de acrídeos pequenos e de coloração obscura, de distribuição quase universal, porém mais abundantes nas regiões quentes e húmidas. Caracteriza-se pela ausência de arólios e de tímpanos, por suas tégminas rudimentares, seus dois tarsômeros nas patas anteriores e médias e três nas posteriores, pelo pronoto sensìvelmente prolongado sôbre o abdômen e pelas peças do oviscapto largas e dentadas.

Existe enorme bibliografia sôbre seus 200 gêneros e muitas de suas espécies têm sido utilizadas para estudos de Genética, sendo seu complexo cromosômico distinto do que se observa em outras famílias da subordem. Respeito às formas sul-americanas, pode-se consultar o trabalho de Bruner publicado in *Ann. Carnegie Mus.*, 1910, VII:89-143.

Elelus curtus Bolívar, 1887, Ann. Soc. Ent. Belg, XXXI:206, Pl. I, figs. 7-7a yb.
Cota strumosa Bolívar, l. c., p. 206 (Amazonas Superior, Benevides)
Amorphopus griseus Bolívar, l. c., pp. 251-252 (Amazonas Superior)
Amorphopus notabilis (Serville), Ins. Orth., 1839:757, Pl. 2, fig. 20 (Pará)
Amorphopus cnemidotus (Burmeister), 1838, Hand. Ent. II:650.
Eomorphopus antenattus (Bol.) l. c., p. 251, pl. 2, figs. 19-19a-b (Amazonas Superior, Chapada)
Eomorphopus granulatus Hancock, 1906, Genera Insectorum, 48:38, pl. 4, 35-35a
Chiriquia concinna Bol., l. c., p. 249 (Bahia)
Platytettix gibbinotus Bruner, 1910, Ann. Carnegie Mus., VII:99-100 (Pará)
Platytettix uniformis Bruner, l. c., p. 100-101 (Pará, Benevides)

Gladiotettix turgida Bol., l. c., p. 253 (Amazonas Superior)
Gladiotettix hancocki Bruner, l. c., pp. 102-103 (Pará)
Crimisus patruus Bol., l. c., p. 246 (Amazonas Superior)
Sclerotettix abbreviatus Bruner, l. c., p. 105-106 (Chapada)
Sclerotettix tibialis Bruner, l. c., pp. 106-107 (Chapada)
Sclerotettix variegatus Bruner, l. c., p. 107 (Chapada)
Sclerotettix infuscatus Bruner, l. c., pp. 107-108 (Corumbá, Chapada)
Sclerotettix minor Bruner, l. c., p. 109 (Chapada)
Metrodora rana Bol., l. c., p. 248 (Amazonas Sup.)
Metrodora lutosa Bol., l. c., p. 248 (Brasil)
Otumba spinifrons Hancock, 1906, 48:644 (Santarém)
Otumba marcapata Hancock, l. c., p. 44 (Pará, Chapada)
Otumba basalis Bruner, l. c., pp. 112-113 (Pará)
Allotettix fuscipennis Bruner, l. c., pp. 115-116.
Allotettix cayennensis Bol., l. c., p. 273 (Cayena e Santarém)
Allotettix chapadensis Bruner, l. c., p. 117 (Chapada)
Paratettix toltecus (Saussure) 1861, Rev. Mag. Zool., XIII, 2:401. Liebermann, 1950, Bol. Fittos. IV, 3-4:195 (Guaraliba e S. Bento) Nota: Esta espécie figura na bibliografia como *P. borellii*, sinônima.
Paratettix gracilis (Bruner), 1900, Acc. Gen. Spec. Arg. Loc.: 15 (Sul do Brasil). Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7, 2:166 (Salobra, Bodoquena)
Micronotus asperulus Bol., l. c.: 260 (Apiahy)
Micronotus caudatus (Sauss.). 1861, Rev. Mag. Zool., XIII:31.
Prototettix fossulatus Bol., l. c., p. 256 (Apiahy, "Rio" e Chapada)
Prototettix lobulatus (Stal), 1860, Freg. Eug. Resa, Ins. Orth.: 347
Tettigides annulipes Bruner, 1910, Ann. Carnegie Mus., VII:127 (Chapada)
Tettigidea scudderi Bol., l. c., p. 299 (Amazonas Superior)
Tettigidea gracilicornis Bruner, l. c., pp. 128-129 (Rio de Janeiro, Chapada)
Tettigidea chapadensis Bruner, l. c., pp. 130-131
Tettigidea hancocki Bruner, l. c., p. 131 (Corumbá)
Tettigidea australis Bruner, l. c., p. 132 (Chapada)
Tettigidea intermedia Bruner, l. c., p. 133 (Chapada)
Tettigidea costalis Bruner, l. c., pp. 133-134 (Chapada)
Tettigidea subaptera Bruner, l. c., pp. 134-135 (Chapada)
Tettigidea arcuata Bruner, l. c., pp. 135-136 (Chapada)
Tettigidea multicostata Bol., l. c., p. 299 (Corumbá)
Tettigidea corrugata Bruner, l. c., pp. 136-137 (Chapada)
Lophottetix lineatus Bruner, l. c., pp. 136-137 (Chapada)
Aptenopedon apicale Bruner, l. c., p. 140 (Rio de Janeiro)
Scaria producta Hancock, 1906, Gen. Ins. 48:70 (Pará e Santarém)
Batrachidea mucronata Serville, 1839, Ins. Orth.: 764 (Chapada)
Paurotarsus amazonus Hancock, 1900, Psyche, IX:42-43, figs. 1a e 1d (Amazonas)
Puigaria antennata Bol., l. c., pp. 302-303, pl. 2, figs. 26, 26a e 26b. (Apiahy)

Eumastacidae, Burr, 1903

Esta família rara de acrídios monstruosos e elegantes prefere as regiões quentes da terra, especialmente as matas; daí serem pouco conhecidos os seus hábitos. Antenas mais curtas que o femur anterior e patas muito largas mostram distantes afinidades com *Proscopiidae*, com os quais têm algumas características em comum. Seus mais notáveis investigadores foram M. Burr, I. Bolívar, I. Sjostedt, sendo recente a monografia de J. A. G. Rehn e de J. W. H. Rehn sôbre as formas americanas. O Dr. Rehn vem de publicar notável trabalho sôbre *Eumastacidae* da Austrália. Para o Brasil só foram citadas nove espécies.

Temnomastax hamus Rehn e Rehn, 1942, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. XCIV:18-21, figs. 2-8 (Minas Gerais)
Temnomastax latens Rehn, l. c., pp. 21-25, figs. 9, 13, 14, 36 (Lassane, M. Gerais)
Temnomastax borelli (G. Tos), 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XII:17 = Masyntes chapadensis Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:6-8 (Chapada)
Temnomastax tigris (Burr) 1869, An. Soc. Esp. Hist. Nat., XXVIII: 274-276, pl. IV, fig. 11 = Masyntes brasiliensis Bruner, l. c. p. 6 (Corumbá e Urucum)
Eumastacops (*Arawakella*) *unca* Rehn, e Rehn, l. c., pp. 60-65, fig. 50, Pl. I (4-5) e Pl. II (16-17) (Itacoatiara)
Eumastacops memorivaga Rehn e Rehn, l. c., pp. 68-73, figs. 52, 56, 57, 58, 59 e Pl. II, figs. 13, 14 e 15
Eumastacops militaris (Gerstaecker), 1899, Mitth. Neu Vorpomm. Rugen, XX:42 (Olivença e Fonte Boa, Amazonas)
Eumastocops plebeja (Gerstaecker), l. c., p. 47 (Fonte Boa, Amazonas)
Eumastacops caligo Rehn e Rehn, l. c., pp. 84-87, fig. 56, Pl. I (8) e II (10) (Teffé, Amazonas)

Pyrgomorphidae, Brunner, 1893

Tem esta família pouca representação na América, sendo freqüente na África e na Ásia. Suas espécies tropicais apresentam coloração brilhante. A cabeça geralmente tem forma cônica, com fovéolas temporais contíguas e separadas apenas por sulco mediano. Tarsos com arólios, antenas freqüentemente ensiformes e prosterno com pequeno tubérculo ou bordo anterior laminar. São seus mais notáveis monógrafos, entre outros, Bolívar, Karsch, J. A. G. Rehn e K. Mac Kevan. Três espécies apenas foram citadas para o Brasil.

Algete brunneri Bol. 1905, Bol. Soc. Esp. Hist. Nat., VI:214 (Pernambuco)
Omura congrua Walker, 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus., III:503 (Pará, Benevides)

Deraspiella volxemi (Bol.) 1884 Anales Soc. Esp. Hist. Nat., XIII:62, Pl. I, fig. 6. Genera Insectorum, 1909:42. Rehn, 1953. Trans. Amer. Ent. Soc., LXXIX:99-150

Ommexechidae, Chopard, 1949

Esta família, essencialmente sul-americana, foi recentemente elevada a tal categoria por Chopard, tendo em vista a zoogeografia e a morfologia interna. Trata-se de acrídios achatados, de corpo rugoso, com olhos muito salientes e fovéolas temporais situadas lateralmente.

Ommexecha servillei Blanchard, 1863, Ann. Soc. Ent. France, V:613, pl. 22, figs. 2-3. Liebermann, 1950, Rev. Bras. Biol., 10:138. (Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso, Santa Catar.)

Ommexecha macropterum Blanchard, l. c., 610, pl. 21, figs. 3-4

Ommexecha germari (Burmeister), 1836, Hand. Ent., II:665 (Corumbá, São Leopoldo, Pôrto Alegre)

Ommexecha caeruleans Bol., 1899, Rev. Chil. Hist. Nat., III:55

Ommexecha brunneri Bol., 1884, Bol. Soc. Esp. Hist. Nat., XIII:498 (Benevides)

Parossa paludivaga Rehn, 1941, Notulae Naturae, 78:5-7, figs. 13-14 (Descalvados, M. Grosso)

Parossa quadrata Rehn, l. c., pp. 7-11, figs. 5-8 (Curra Linho, M. Gerais)

Parossa bimaculata (G. Tos.), 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., IX:17 (Chapada)

Parossa ampla Rehn, 1918, Trans. Amer. Ent. Soc., XLIV:198, pl. X, figs. 8, 9 e 12. (Franca, São Paulo)

Spathalium bolivari Bruner, 1911, Ann. Carneg. Mus., VIII:39-41 (Santarem)

Nota. — Para alguns autores seria *S. klugii* Burm.

Spathalium klugii (Burm.), 1838, Hand. Ent., II:655 (Goyaz, Chapada, Santarem)

Spathalium paranense Rehn, 1913, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., XLV:86-88, figs. 3-4

Spathalium helios Rehn, 1918, Trans. Amer. Ent. Soc., XLIV:196, Pl. X, fig. 7

Spathalium cyanopterum (Blanchard), 1836, Ann. Soc. Ent. France, V:608, pl. XXI, figs. 1 e 2 (Chapada)

Nota. — Para alguns autores é a espécie anterior e a elucidação só se poderá fazer com materiais topotípicos novos e com exemplares tipos.

Spathalium sommeri Burm., 1838, Hand. Ent., II:654. (Brasil meridional)

Spathalium stali Bol. 1884, An. Soc. Esp. Hist. Nat., XIII:493 (São Leopoldo, Rio Grande do Sul

Romaleidae, Chopard, 1949

H. Radclyffe Roberts, baseado na morfologia dos órgãos genitais internos, estabeleceu a nova subfamília de *Romaleinae*, com uma série de gêneros neotropicais de *Catantopidae* e Chopard elevou à categoria de família. Trata-se de acrídeos de talhe geralmente grande, externamente pouco diferentes dos *Catantopidae*, mas possuem dois espinhos apicais nas tíbias posteriores, enquanto que nos outros só encontramos um. Na realidade, a divisão já aparece em Stal e figura em tôdas as tabelas sistemáticas. As mais notáveis características diferentes estão na morfologia dos órgãos genitais internos.

Procolpia emarginata (Serville), 1832, Ann. Sci. Nat., XXII:271 Liebermann, 1950, Rev. Bras. Biol., 10:134 (Santa Catharina, S. Paulo)
Procolpia regalis Bol., 1909, Rev. Chil. Hist. Nat., XIII:337 (Apiahy)
Procolpia minor (G. Tos), 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., IX:17 (Chapada)
Prorhachis granulosa Scudder, 1875, Proc. Boston Soc. Nat. Hist., XVI:269. Liebermann, Bolet. Fittos., 1950, IV:196
Nota. — Por êrro de imprensa figurava como Prorhacris
Xomana gonagra Gerstaecker, 1889, Mitth. Neu Vorpomm Rugen, XX:6
Xomana nuptialis Gerst., l. c., p. 7
Aeolacris bella Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:114-116 Rio Purús)
Alophonota pierretti (Blanchard), 1837, Rev. Mag. Zool., VII(9):185
Prionolopha serrata (L.), 1758, Syst. Naturae, X ed.:427. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):166 (Chapada, Corumbá, Pará)
Tropinotus angulatus (Stal), 1873, Oefv. Kong. Vet. Akad., XXX:52 (Bahia, Pernambuco, Chapada, Corumbá)
Tropinotus attenuatus Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 118-120 (Chapada)
Tropinotus discoideus Serv., 1831, Ann. Sci. Nat. France, XXII:272 Rio Grande do Sul, Bahia, Porto Alegre, Itatiba)
Tropinotus gracilis Bruner, 1905, Ent. News, XVI:216
Tropinotus laevipes (Stal), 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl. V(9):20(S. Leopoldo)
Tropinotus scabripes (Stal), l. c., pp. 19-20 (S. Leopoldo)
Tropinotus strigatus Bruner, 1911, Ann. Carnegie Mus., VIII:50-52 (Chapada)
Tropinotus regularis Bruner, 1905, Ent. News, XVI:214 (S. Paulo, Mato Grosso)
Securigera brevipennis (G. Tos), 1900, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XV:3 Bolívar, 1909, Rev. Chil. Hist. Nat., XIII:345
Colpolopha obsoleta (Serville), 1831, Ann. Sci. Nat., XXII:274. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):167 (Belem)
Colpolopha cyanoptera (Gerstaecker), 1873, Stett. Ent. Zeit., XXIV:186
Helionotus mirabilis Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:121-124, figs. 8-9,10

Brasilacris gigas Rehn, 1940, Natulae Naturae, 66:5-9 (Noroeste do Brasil)

Elaeochlora viridicata (Serville), 1839, Ins. Orth.:614, Pl. 14, fig. 3. Rehn, 1913, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LXV:331 (Mato Gros.). Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):167 (Salobra)

Elaeochlora trilineata (Serv.), 1831, Ann. Nat. Nat. Sci., XXII:272 (Rio de Janeiro). Costa Lima, 1938, Insetos do Brasil, I:132 (fig. 69)

Elaeochlora pulchella Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:126-128, figs. 13-14 (Corumbá)

Elaeochlora spoliata (Walker), 1870, Cat. Dermap. Sal. Brit. Mus., IV:524

Elaeochlora hymenea (Gerst.), 1873, Stett. Ent. Zeit., XXIV:186 (R. de Janeiro)

Elaeochlora parvispina Pict. et Sauss., 1887, Mitth. Schweiz. Ent. Ges., V::343

Elaeochlora scabra (Thunberg), 1824, Mem. Acad. Petersb., IX:353

Elaeochlora humilis Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:124-126 (Mato Grosso)

Elaeochlora arcuata Rehn, 1908, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LX:13, Fig. 1 (Jundiahy, Salto Grande, São Paulo)

Elaecchlora brevipennis Bruner, 1911, Ann. Carnegie Mus., VIII:55-56 (Chapada)

Elaeochlora frusthorferi Bolívar, 1890, An. Soc. Esp. Hist. Nat. XIX: 318, pl. I, f. 4

Elaeochlora brachyptera Bruner, 1913, Ann. Carn. Mus., VIII:465-466, Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(3):392 (Pôrto Cabral)

Coryacris angustipennis (Brunner), 1900, Acc. Gen. Spec. Arg. Loc.: 58. Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:111-114 (Como *C. diversipes,* Corumbá e Cuyabá)

Callonotacris lophophora Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 129-132, figs. 15, 16, 17 e 18. Costa Lima, 1938, Insetos do Brasil, I:133 (Fotografía). Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol. 7(2):168 (Bodoquena, larvas)

Callonotacris caeruleipennis Liebermann, 1944, Acta Zool. Lilloana, II:249-253, lám. I a IV (Corumbá)

Cyphacris decorata Gerst., 1889, Mitth. Neu Vorpomm. Rugen XX:4. Rehn, 1944, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., XCVI:222-224, figs. 12, 14, 25 e 28 (Olivença, Amazonas)

Tropidacris dux (Drury), 1773, Illustr. Exot. Entom., II:82, pl. 44 (Norte do Bras.)

Tropidacris grandis (Thunberg), 1824, Mem. Acad. Petersb., IX:403 (América do Sul)

Eutropidacris cristata (L), 1758, System. Naturae, X ed.: 431 (em parte). Costa Lima, 1935, Terc. Cat. Ins. Bras.:106. Marques, Luiz de Azevedo, 1922, Bol. Min. Agric. Brasil:113. Medella e Silva, J. B., 1938. Bol. Min. Agric. Bras. 27:109

Prionacris erosa Rehn, 1908, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. LIX:178-179 (São Paulo)

Prionacris compressa Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl. V (4):55. Liebermann, Bol. Fittosan., 1950:196 (Horto Florestal)

Diponthus bilineatus Rehn, 1920, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LXXX:246-248. (Santa Catharina). Liebermann, 1950, Rev. Bras. Biol., X (1):135 (Nueva Breslau, colección Dr. R. Ebner, alotipo)

Diponthus crassus Brunner, 1910, Ent. News, XXI:303-304 (Brasil meridional). Liebermann, 1950, Bol. Fittosan., IV(3-4):196 (E. Paraná)

Diponthus cribratus (Serv.), 1839, Ins. Orth.:648

Diponthus maculiferus (Walker), 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus. V:639

Diponthus festivus Gerst., 1873, Stett. Ent. Zeit., XXXIV:193 (R. G. do Sul)

Diponthus invidus Carl, 1916, Rev. Suiss. Zool., XXIV:507-510 (Bras. meridional)

Diponthus paulista Rehn, 1939, Trans. Amer. Ent. Soc., LXV:204-208, Pl. 12, figs. 13, 14, 15 e 16. (Dourado, S. Paulo)

Cyphacris picticornis Scudder, 1890, Psyche, V:441 (Amazonas Superior)

Xestotrachelus hasemani Bruner, 1913, Ann. Carn. Mus., VIII:469-470 (Bahia)

Xestotrachelus robusta Bruner, 1911, l. c., pp. 60-62 (Chapada, como Zoniopoda)

Chromacris speciosa (Thunberg), 1824, Mem. Acad. Petersb., IX:394, pl. XIV, fig. 1. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):167 (Therezopolis)

Chromacris nuptialis (Gerst.), 1873, Stett. Ent. Zeit., XXXIV:185

Chromacris latipennis Pict. et Sauss., 1887, Mitth. Schweiz. Ent. Ges.:349 (Chap.)

Chariacris dulcis Walker, 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus., IV:654

Zoniopoda collaris Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:60 (Chapada, Goiás)

Zoniopoda hempeli Bruner, l. c., pp.58-59 (São Paulo)

Zoniopoda fissicauda Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX:653 (Goiás)

Zoniopoda Ihering Pict. et Sauss., l. c., p. 357 (Brasil meridional)

Zoniopoda mimicula Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:132-134, figs. 19-20 (Chapada)

Zoniopoda omnicolor (Blanchard), in D'Orbigny, 1837-1843, Voyage Amer. merid. Pl. 27, fig. 3. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):167 (Salobra)

Zoniopoda tarsata tarsata (Serv.) 1831, Ann. Sci. Nat., XX:283 (N. e centro Bras.)

Ophthalmolampis geniculata (Stal), 1873, Rec. Orthopterorum, I:54

Ophthalmolampis modesta Gerst., 1889, Mith. Neu. Vorpomm. Rugen, XX:23-24 (Amaz.)
Ophthalmolampis speciosissima Gerst., l. c., p. 26 (Amazonas)
Ophthalmolampis dichroa Gerst., l. c., p. 27 (Amazonas)
Ophthalmolampis melanotus Gunther, 1940, Arch. Naturg., N. F., IX:400
Ophthalmolampis geniculapicta Bruner, 1920, Ann. Carn. Mus., XIII:39. Liebermann, 1945, Publ. Técn. Sanidad Veg., I, A, 7:5-12, 5 figs.
Mezentia acanthopyga Rehn, 1938, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., XC:86-89. Pl. 6, figs. 34-36 e Pl. 7, fig. 42. (Teffé, Amazonas)
Hisychius brasiliensis Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:68-69 (Pará)
Trybliophorus bivittatus (Walker), 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus., IV:608
Trybliophorus corallipes (Gerst.), l. c., p. 23
Trybliophorus volucris (Gerst.), l. c., p. 22

Catantopidae, Chopard, 1949

Trata-se aqui da família anteriormente considerada subfamília *Cyrtacanthacridinae,* designação esta que os autores norte-americanos continuam empregando. Contém os acrídios mais comuns e as "tucuras" mais daninhas. Suas fovéolas são laterais e nunca formam o ápice do vértice. Apenas um espinho apical nas tíbias posteriores, tubérculo prosternal notável e órgãos de vôo geralmente bem desenvolvidos. Do ponto de vista econômico os dois gêneros mais importantes são *Schistocerca* Stal e *Dichroplus* Stal.

Leptysma cyanoptera Gerst., l. c., p. 33 (Amazonas)
Leptysma dorsalis (Burmeister), 1838, Hand. Ent. II:610. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):168
Leptysma grossa Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:74-76 (Chapada)
Leptysma gracilis Bruner ,l. c., p. 78 (Corumbá)
Leptysmina pallida G. Tos, 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., IX:35 (Victoria)
Leptysmina tenuipennis Bruner, l. c., p. 79 (Corumbá)
Opshomala gracilis (G. Tos), 1897, l. c., XII:30 (Corumbá)
Opshomala coccineipes Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX: 359 (Victoria)
Opshomala cylindrodes (Stal) 1860, Freg. Eug. Resa, Orth.:325 (Corumbá, Pernambuco)
Opshomala lanceolata Walker, 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus., IV:551
Opshomala minor Bruner, 1908, Biologia Centrali Americana, Orth. II:257
Opshomala stali Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:80 (Chapada)

Oxyblepta bohlsi (G. Tos), 1895, Zool. Jahrb. Abth. Systematik, VIII:813
Oxyblepta puncticeps (Stal), 1860, Freg. Eug. Resa, Orth.:325
Oxyblepta xanthochlora (Marschall), 1835, Ann. Wienner Mus. I:215, Pl. 18, fig. 7
Oxybleptella pulchella Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 136-140
Oxybleptella sagitta G. Tos, 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., IX:33 (São Paulo)
Inusia bonitensis Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:139-140 (Bonito, Pernambuco)
Inusia gracillima G. Tos, 1897, l. c., XIII:31. Liebermann, 1950, Rev. Bras. Biol., 10(1):136 (Bahia)
Inusia janeirensis Bruner, 1908, Biol. Centrali Americana, Orth., II:259. (Rio de Janeiro)
Eumastusia koebelei (Rehn), 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 142-144 (Bonito, Pernambuco)
Cornops longipenne (Degeer), 1773, Mem. Ins., III: pl. 42, fig. 9. (São Paulo)
Cornops politum Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX:664 (Rio de Janeiro, Ipiranga, São Paulo)
Cornops dorsatum Bruner, 1911, Ann. Carnegie Mus., VIII:84-85 (Chapada)
Cornops longicorne Bruner, 1911, l. c., pp. 82-84 (Pará)
Cornops aquaticum Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX:663-664 (Corumbá)
Mastusia spectabilis Bolívar, 1890, An. Soc. Esp. Hist. Nat., XIX:325 (Amaz.)
Episcopotettix sulcirostris Rehn, 1902, Trans. Amer. Ent. Soc., XXIX: 13-14. Rehn, 1920, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. LII:249-250 (México e Goiás, Brasil). Costa Lima, 1942, Rev. Bras. Biol., 2(1): 57-65. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(3):392-393.
Tetrataenia surinama (L.), 1764, Mus. Ludov. Ulricae: 146. Stal, 1873, Recensio Orthopterorum, I:53
Tetrataenia brachyptera Gerst., 1889, Mitth. Neu. Vorpomm. Rugen, XX:19
Tetrataenia virgata Gerst., l. c., p. 20. Giglio Tos, 1898, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XIII:62
Tetrataenia nitidula Bolívar, 1890, An. Soc. Esp. Hist. Nat., XIX:324
Tetrataenia phila Rehn, 1918, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. L:172-176, Pl. 1, figs. 26-27 (Na coleção da D. S. V. do Brasil)
Copiocera lepida Gerst., l. c., p. 34
Copiocera erythrogastra (Perty, 1834, Delect. Anim. Articulat.: 122, Pl. 24, fig. 2
Copiocera eucera (Marsch.) 1836, Ann. Wien. Mus. Naturg., I:216. Pl. 18, fig. 9
Copiocera austera Gerst., l. c., p. 36 (Rio de Janeiro)
Copiocera laeta Gerst., l. c., p. 35

Copiocera haemotonota (Burm.), 1838, Hand. Ent., II:634
Copiocera prasina Rehn, 1916, Trans. Amer. Ent. Soc., 42:287
Copiocera surinamensis Rehn, 1913, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LXXVI:94-96, figs. 7-8 (Goiás)
Chlorpeustes leucotylus Rehn, l. c., 1918, LVII:175-176
Chlorohippus roseipennis Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:88-89 (Chapada)
Bucephalacris fuscipennis Brunner, l. c., : 91-93 (Benevides)
Bucephalacris corallipes Bruner, l. c. : 93-94 (Corumbá)
Poecilocleus falcifer Rehn, 1918, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LX: 180-183
Coscineuta cicatricosa Bolívar, 1890, An. Soc. Esp. Hist. Nat., XIX:323
Coscineuta pulchripes Gerst, l. c., p. 23 (Amazonas)
Coscineuta sordida Rehn, 1916, Trans. Amer. Ent. Soc., 42:291
Zoosperamerus marginalis Walker, 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus., IV:622
Zoosperamerus brasiliensis Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:94-96 (Pará)
Abila latipes Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl., V(4):56
Abila smaragdipes Bruner, l. c., : 96-97 (Pará, Santarém)
Phaeoparia linea-alba (L.) 1764, Mus. Ludov. Ulricae:150
Adelotettix brunneus Bruner, l. c. : 98 (Pará)
Adimantus ornatissimus (Burm., 1838, Hand. Ent., II:636 (Sete Lagoas, M. Geraes). Liebermann, 1945, Rev. Soc. Ent. Arg., XII: 418-420
Adimantus vitticeps (Blanchard), 1846, D'Orbigny, Voyage: 216, Pl. 27, fig. 4 (Corumbá). Liebermann, 1945, Rev. Soc. Ent. Arg., XII:423-424 (Bras. merid.). Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol. 7(2):169 (Salobra)
Adimantus cubiceps (Gerst.), 1873, Stett. Ent. Zeit., XXXIX:189. Liebermann, 1945, Rev. Soc. Ent. Arg., XII:423-424. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol. 7(2):169 (Salobra, Salto Grande)
Zygoclistron trachystictum Rehn, 1905, Ent. News, XVI:39-40, figs. 1, 2, 3. (Sul do Brasil)
Zygoclistron acutum Rehn, 1913, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LXV: 96-97, figs. 9-12 (Sul do Brasil)
Zygoclistron modestum Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:99-100 (Chapada)
Paraleuas bohlsi G. Tos, 1898, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XIII:57-58
Paraleuas forsteri Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX:669-670 (Corumbá)
Paraleuas frater Rehn, 1909, l. c., XXXVI:144-146, figs. 28-29 (Chapada)
Paraleuas punctipennis Bruner, 1906, l. c., XXX:670-671 (Corumbá, R. de Janeiro)
Paraleuas minor Bruner, l. c., p. 669 (Victoria)

Aleuas vitticollis Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl. V(4):69 (Corumbá)
Aleuas gracilis Stal, l. c., p. 70 (Corumbá)
Aleuas curtipennis Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:672 (Corumbá)
Orthoscapheus roseipennis Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX: 672 (Corumbá)
Jodacris chapadensis Bruner, l. c. : 105-106 (Chapada)
Jodacris ferruginea G. Tos., 1897, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XII:30 (M. Grosso)
Jodacris furcillata Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:117-118
Jodacris intermedia Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:106-107 (Santarem)
Machaeropoles rostratus Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 152 (Chapada)
Vilerna aeneo-oculata (Degeer), 1773, Mem. Ins., III:502, Pl. 42, fig. 11 (Pará)
Vilerna flavipennis Gerst., 1889, Mitth. Neu. Vorpomm. Rugen, XX: 14 (Amazonas)
Vilerna rugulosa Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl., V(4):61 (Benevides). Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(2):169 (Bodoquena)
Nuciera elegantula Rehn, 1916, Trans. Amer. Ent. Soc., 42:279
Nuciera roseipennis Stal, l. c. : 61-62
Nuceriolus erythrocerus Gunther, 1940, Arch. Naturg. N. F.:?
Nuceriolus flavomaculatus Gunther, l. c., p.?
Leptomerinthoprora aequalis Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI:150-152
Leptomerinthoprora graciliocornis Bruner, l. c. : 114-115 (Chapada)
Osmiliola aurita G. Tos, 1897, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XII:32 (Chap.)
Xiphiola borellii G. Tos, 1900, l. c., XV:5 (Rio de Janeiro, Chapada)
Osmilia violacea (Thunberg), 1824, Mem. Acad. Petersb., IX:396 (Iguassú)
Osmilia flavolineata (Degeer), 1773, Mem. Ins., III:497, pl. 42, fig. 4
Osmilia rufipes (Thunb.), l. c., p. 395
Abracris dilecta Walker, 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus. IV:642 (Santarem)
Abracris nebulosa (Bruner), 1900, Acc. Gen. Spec. Arg. Loc.:67 (Victoria)
Abracris caeruleipennis (Bruner), l. c. : 66-67 (Chapada)
Abracris chapadensis (Bruner), 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:109 (Chapada)
Abracris conspersipennis Bruner, l. c., pp. 110-111. (Chapada)
Abracris meridionalis (Bruner), l. c., p. 111 (Victoria)
Homalosaparus canonicus Rehn, 1908, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. LX:17-20 (S. P.)

Homalosaparus sordidatus Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 155-157

Homalosaparus sordidatus Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 155-157

Antiphanes nodicollis (Burm.), 1838, Hand. Ent., II:637

Cocama tripunctata Rehn, 1916, Trans. Amer. Ent. Soc., XLII:302

Hypsipages dives Gerst., l. c., p. 17

Anablysis fuscomaculata Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:118-119. (Pará)

Ommatolampis cincta Saussure, 1859, Rev. Zool., XI(2):394

Ommatolampis collaris Bruner, 1910, H. Soc. Ent. Rossicae, XXXIX: 484. Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:120

Ommatolampis leucopterus ovipennis Gunther, 1940, Arch. Naturg. N. F.:? X.

Ommatolampis perspicillata (Johansson) 1763, Amoen. Acad.:398

Sitalces infuscatus Bruner, 1908, Biol. Centr. Amer. Orth., II:291. Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:123-124 (Chapada, Benevides)

Sitalces jugatus Rehn, 1918, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LXX: 185-190

Sitalces madeirensis Rehn, 1916, Trans. Amer. Ent. Soc., 42:300

Sitalces nudus Bruner, 1908, Biol. Centr. Amer. Orth. II:291. Bruner, 1910, H. Soc. Ent. Ross., XXXIX:486. Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:122-123

Sitalces robustus Bruner, 1908, Biol. Centr. Amer. Orth., II:291. Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:121-122 (Pará, R. de Janeiro)

Sitalces vittiventris Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl. V(9): 17-18

Eujivarus fusiformis Bruner, l. c. : 144-145 (Chapada)

Eujivarus meridionalis Burner, l. c. : 146-147 (Pernambuco)

Psiloscirtus olivaceus Burner, l. c. : 141-142 (Benevides)

Schistocerca cancellata (Serville), 1839, Ins. Orth.:664 (Brasil meridional)

Schistocera carneipes (Serville), l. c.:665

Schistocerca pallens (Thunberg), 1815, Mem. Acad. Petersb. : 237 (Chapada)

Schistocerca desiliens Scudder, 1899, Proc. Acad. Amer. Arts. Sciences, XXXIV:455

Schistocerca flavofasciata (Degeer) 1773, Mem. Ins., pl. 40, fig. 8 (Pará)

Schistocerca infumata Scudder, l. c. : 457 (Teresópolis)

Schistocerca australis Scudder, l. c. : 459

Schistocerca viridescens Walker, 1870, Cat. Dermap. Salt. Brit. Mus., IV:553

Schistocerca gratissima Rehn, 1908, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., LX:20-22, figs. 4-5 (São Paulo)

Schistocerca idonea Scudder, l. c. : 461 (Chapada)

Antiphon gallus Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl., V(4): 55-56. Liebermann, 1940, Rev. Soc. Ent. Arg., X:363-367

Antiphon acropyrinom (Petry), 1833, Del. Anim. Articulat.:123, pl. 25, fig. 5.

Monachidium carbunculum Gerst., 1873, Stett. Ent. Zeit., XXXVI:185

Monachidium crista-flammea Perty, l. c., 124, pl. 24, fig. 6

Monachidium opulentum Gerst., 1889, Mitth. Neu. Vorpomm., XX:5

Monachidium lunum (Johansson), 1763, Amoen. Acad., VI:391

Atrachelacris unicolor G. Tos, 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., IX:19-20

Dichroplus punctulatus (Tunb.) 1824, Mem. Acad. Petersb., IX:408 (Santarem)

Dichroplus bergi Stal, 1878, l. c. : 6-7

Dichroplus robustulus (Stal), l. c. : 7

Dichroplus distinguendus G. Tos, l. c. : 22-23. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol., 7(3):394 (São Paulo)

Dichroplus pratensis Bruner, 1900, Acc. Gen. Spec. Arg. Loc.: 37

Dichroplus brasiliensis Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX:682 (Victoria)

Dichroplus gracilis Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:130-132

Dichroplus olivaceus Bruner, l. c. : 133-134 (Chapada)

Dichroplus fraternus Carl, 1916, Rev. Suisse Zool., XXIV; 514-515 (Bras. merid.)

Scotussa lemniscata (Stal) Lieb., 1860, Freg. Eug. Resa, Orth.:334. Liebermann, 1947, Publ. Técn. San. Veg., A, III, 33:20-22

Scotussa brasiliensis Bruner, 1906, Proc. U. S. Nat. Mus., XXX:689 Nota — O autor a considera como sinônimo de *S. cliens* (Stal)

Leitotettix viridis Bruner, l. c. : 685-686 (Chapada, Rio de Janeiro)

Leitotettix sanguineus Bruner, l. c. : 687 (Chapada)

Parascopas chapadensis Rehn, 1909, Proc. U. S. Nat. Mus., XXXVI: 159

Parascopas obesus (G. Tos), 1894, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., IX:29 (Corumbá). Liebermann, 1950, Rev. Bras. Biol., 7(2):169

Chlorus brunneus Bruner, 1911, Ann. Carn. Mus., VIII:137

Chlorus bolivianus Bruner, 1913, l. c., VIII:498 (Rio de Janeiro). Liebermann, 1950, Rev. Bras. Biol., 10(1):188

Eurotettix robustus Bruner, 1911, l. c., VIII:135-136 (Chapada)

Propedies fusiformis (G. Tos), 1897, Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Tor., XII:35

Propedies geniculatus (Bruner), 1911, l. c., VIII:139-140 (Chapada)

Propedies rubripes (Bruner), l. c. : 138-139 (Corumbá)

Propedies sanguineus (Bruner), 1920, l. c., XIII:86-88

Propedies hebardi Costa Lima, 1941, An. Acad. Bras. Cienc., XIII:324 (S. Paulo)

Rhytidochrota turgida Stal, 1873, Rec. Orth., I:54

Rhytidochrota laevifrons Stal, 1878, Bihang. Svensk. Akad. Handl. V(54):78

Pycnosarcus atavus (Saussure), 1859, Rev. et Mag. Zool. (2):393. Liebermann, 1951, Rev. Soc. Ent. Arg., XV:136-140, figs. 4-5. (R. de Janeiro)

PAULINIINAE

Marelia remipes Uvarov, 1929, Ann. Mag. Nat. Hist. 10(4):540-542. Liebermann, 1940, Ciência, I, (5):205-206 (1 de julho). Rosas Costa, A., 1940, Notas Mus. Hist. Nat. La Plata, V:139-147 (15 de julho). Willemse, 1948, Naturhist. Genoot. Limburg, I:138-139

Paulinia acuminata (Degeer), 1773, Mem. Ins., III:501, pl. 42, fig. 10 Liebermann, 1948, Rev. Soc. Ent. Arg., XIV:101-102, fig. p. 104. Liebermann, 1947, Rev. Bras. Biol. 7(2):170. Willemse, l. c. : 133-135

Descrição e análise geométrica de Autonoe conicurvae, nova espécie de crustáceo (Amphipoda, Aoridae)

por

Lejeune P. H. de Oliveira

SISTEMÁTICA

Na família *Aoridae* o gênero *Autonoe* Bruzelius 1859 reconhece-se por sua antena I com flagelo acessório, o 1.º par de gnatópodos do macho com o mero não imensamente dilatado, carpo não tendo dente forte, sendo êste e o mero de mesma largura; o 3.º par de urópodos não tem os ramos excessivamente pequeninos, mas são de tamanho bom e normal, os ramos internos e externos quase sub-iguais em comprimento, o externo muito pouco mais largo.

A seguinte chave mostra a posição da nova espécie *Autonoe conicurvae*.

CHAVE

1	— espécies cegas, abissais, sem traços de órgãos visuais, vivendo a mais de 900 metros de profundidade nos oceanos	*
1a	— espécies com olhos	2
2	— maxilípodos de lâminas curtas (do mar de Kara, 70º Lat. norte)	*
2a	— maxilípodos normais	3
3	— superfície ventral do péreon com espinhos	*
3a	— superfície ventral do péreon sem espinhos	4
4	— o 1.º par, ou os 1.º e 2.º pares de pereiópodos com artículos extremamente hirsutos e cerdosos	*
4a	— pereiópodos não cerdosos	5
5	— Segundo artículo do 1.º par de gnatópodos com um tufo de cerdas no canto postero-inferior	*

5a — 1.º par de gnatópodos sem o tufo piloso no segundo artículo 6
6 — Com processos espinhosos no lábio inferior e com fileiras de 12 espinhas na mandíbula ..... *
6a — Lábio inferior normal, mandíbula normal (segundo a figura da Estampa 2) 7
7 — 2.º par de gnatópodos com o 2.º artículo fortemente dilatado (das Ilhas Kerguelen, 240 metros de profundidade) ..... *
7a — basípodo normal 8
8 — I antena maior que metade do comprimento do corpo, o seu 2.º artículo é o mais longo, flagelo acessório de 4 artículos *
8a — I antena menor que metade do comprimento do corpo, o 1.º artículo é que é o mais longo, flagelo acessório de 2 artículos — *Autonoe conicurvae* n. sp.

* — espécies não verificadas no Brasil, chave de Stebbing, 1906, p. 594.

DESCRIÇÃO DO MACHO

Cephalon aproximadamente de mesmo comprimento que os dois somitos que lhe seguem; somitos do péreon sub-iguais em comprimento, pléon de mesmo comprimento que os 3 últimos somitos do péreon, urósoma menor que o pléon.

Olhos distintos, pequenos, ovóides, pigmentados de negro. 1.º par de antenas: o pedúnculo tem o 1.º artículo o mais longo, pouco maior que o seguinte (b-1 e b-2 Estampa 2), o 3.º artículo é menor que a metade do 2.º; pequeno flagelo acessório de 2 artículos curtos, e o flagelo principal medindo 1 e 1/5 vêzes o comprimento do pedúnculo, tendo 10 artículos flagelares sub-iguais em comprimento (b-4 até b-13).

2.º par de antenas, curto (alcançando apenas até ao flagelo acessório da I antena) com um pedúnculo de 5 artículos, sendo os 1.º, 2.º e 5.º artículos curtos, os 3.º e 4.º longos e sub-iguais (c-3 e c-4 Estampa 2); o flagelo curto tem 4 artículos.

1.º par de maxilas — lâmina interna (ou endopodito do ísquio), apresenta uma dezena de cerdas no ápice (e-3 Estampa 2); palpo de dois artículos, o 1.º artículo (e-4) curto com uma cerda interna, e o 2.º artículo (e-5) com 3 cerdas lisas superficiais; a armadura marginal é a seguinte: 1 espinho em gládio, 1 bipectinado, 4 forcados, e 2 em forma de lança (frâmea) losangular.

Mandíbula — com um palpo tri-articulado sendo o 2.º artículo palpal (d-3), Estampa 2) duas vêzes e meia maior que o 1.º; o último artículo é falciforme, com longas cerdas lisas marginais dispostas uniformemente, e 4 cerdas superficiais perpendiculares. Processo incisivo principal com 6 dentes em dois grupos de 3, e o processo incisivo acessório com uma coroa de 3 dentes pontudos. Cinco espinhos falciformes. Tubérculo molar normal.

Maxilípodo — o 1.º artículo, artículo coxal, em forma de H, aspecto normal; 2.º artículo — base — g-2, estampa 2 — com a lâmina interna curta, subquadrilátera, alcançando até ao meio do mero, armada de 9 espinhos bi-pectinados, sendo 5 apicais e 4 internos. O 3.º artículo, ísquio, curto, sub-retangular, mas com grande lâmina ovóide, alongada, lâmina isquial que alcança até ao 6.º artículo do maxilípodo, com a seguinte armadura: 6 espinhos em cimitarra, na margem interna; 3 espinhos em gládio longos e um espinho em gládio pouco mais curto na margem apical; várias cerdas lisas superficiais.

Palpo do maxilípodo, com 4 artículos (g-4 até g-7, Estampa 2), o 1.º artículo palpal curto, triangular, com 2 cerdas apicais externas, 2.º artículo palpal (g-5), sub-paralelogrâmico, longo, alcançando tanto quanto a lâmina interna, tem uma margem interna reta com 5 cerdas, e uma parte marginal interna, oblíqua, distal, com 8 cerdas lisas e 2 cerdas apicais externas; margem distal mais estreitada e tendo metade da largura dêste artículo. Artículos g-6 e g-7 segundo a estampa 2, com aspecto normal.

1.º par de gnatópodos fracamente quelado, maior que o 2.º, seu 1.º artículo, ou placa lateral, é sub-quadrilátera, pequena, mais avançada para a frente; basípodo ou 2.º artículo, é grande, de mesmo tamanho que o carpo, margem anterior reta, com 3 cerdas lisas sub-apicais, margem posterior arqueada e com cerda distal, é dilatado e oblíquo inferiormente.

Ísquio, ou 3.º artículo, quadrilátero curto, com 1 pequeno tufo de cerdas póstero-distais. Mero, ou 4.º artículo, em forma de 1/4 de círculo, com a margem posterior uniformemente cerdada, e margem anterior sòlidamente prêsa ao carpo, sub-articular e oblìquamente. Carpo sub-triangular, margem posterior arqueada e com dois tufos de cerdas finas.

Própodo trapezóide, forte, maciço, e mais espesso junto à margem dáctilo-articular, margem anterior levemente arqueada, convexa, tendo sua metade coberta de cerdas, e a margem posterior reta, com 4 grupos de cerdas; margem dáctilo-articular oblíqua, com duas denteações fortes e um espaço liso, côncavo, com 7 cerdas, e, no local em que se insere o dáctilo há um tubérculo mais arredondado. Dáctilo pouco curvo, forte, pontudo, superfície interna rugosa, não fechando completamente na palma.

2.º par de gnatópodos fracamente quelado, menor e mais fraco que o 1.º par, placa lateral menor que a 1.ª e de contôrno sub-quadrilátero, os 2.º, 3.º e 4.º artículos são análogos aos do 1.º gnatópodo, mas menores e mais fracos. O 5.º artículo — carpo — é simètricamente convexo em ambas as margens assim como uniformemente e igualmente cerdado; o 6.º artículo própodo, é sub-ovóide, alongado, cerdado uniformemente em ambos os lados, margem dáctilo-articular curta, oblíqua, quase reta, limitada por uma espinha pontuda, póstero-inferior, e uma série de 10 espínulas encarreiradas; dáctilo fraco, liso, arqueado, alcançando um pouco além da espinha póstero-inferior.

Pereiópodos — 3.º par mais curto que os 1.º e 2.º, os 4.º e 5.º são longos, sendo o 5.º pereiópodo o mais longo. Os 1.º e 2.º pares apresentam dáctilos mais curtos que os artículos onde se inserem.

1.º par de pereiópodos com o 2.º artículo — artículo basal — o mais longo, margem anterior quase reta com 2 espinhos marginais curtos e 1 espinho no canto ântero-inferior, margem posterior um pouco mais convexa com uma cerda no canto distal.

Ísquio pequeno, sub-quadrado; o 4.º artículo — mero — em forma da letra A, com duas pequenas cerdas de cada lado; carpo curto, sub-retangular, duas cerdas em cada canto distal; própodo — 6 artículo — mais longo que o carpo, arqueado e liso anteriormente, posteriormente com 4 cerdas mais ou menos longas igualmente espaçadas; o própodo é mais afilado junto ao dáctilo que junto ao carpo; dáctilo pouco arqueado quase reto.

2.º par de pereiópodos análogo ao 1.º, mas com a disposição dos espinhos e das cerdas pouco diversa: 8 espinhos curtos anteriores, 1 cerda posterior no 1.º artículo, 2 anteriores no mero, 2 posteriores no carpo, uma só posterior no própodo (II, Estampa I).

3.º par de pereiópodos com a coxa, base, e ísquio ainda análogos aos dos 1.º e 2.º pares, mas o mero tem uma dilatação póstero-inferior onde se inserem 3 cerdas curtas; o própodo e o dáctilo têm aspecto recurvado, e são revertidos para o lado anterior (III, Estampa 1).

Último par de pereiópodos com a placa lateral a mais curta e a mais baixa; 2.º artículo — basal — grande, ovóide, bi-truncado, sua margem posterior tem 4 espinhos curtos na parte mediana e 1 cerda no 1/3 inferior; ísquio quadrado com 2 cerdas ântero-inferiores; o 4.º artículo — mero — é alongado, tem a margem anterior mais reta e a posterior mais convexa, com 2 longas cerdas ântero-inferiores, e 3 espinhos fortes posteriores, e 2 cerdas póstero-inferiores. O carpo menor que o mero, armado anteriormente com dois grupos de espinhas duas a duas em forma da letra V, e com uma espinha curta posterior, e uma cerda pouco mais longa postero-inferior; o própodo do tamanho do mero e ísquio juntos, sub-cilíndrico, com 6 fortes espinhos curtos anteriores, canto póstero-inferior com um tufo de 4 cerdas lisas; dáctilo forte, pouco arqueado, medindo metade do própodo. (Estampa 1).

Pleópodos normais, como os típicos do gênero *Autónoe*.

Urópodos: O pedúnculo do 1.º par de urópodos é de mesmo comprimento que seu ramo interno, mas mais robusto e com uma grande espinha apical pouco recurva; o ramo externo pouco mais curto que o interno é armado com 2 espinhos na margem externa, e mais 3 apicais obliquamente inseridos. A armadura do ramo interno: na face súpero-interna 2 pares de espinhos inseridos em V, e um isolado em lanceta,

mais o grupo apical: 2 em forma de lanças sub-losangulares entre 2 espinhos cegos, curtos arredondados.

2.º par de urópodos: pedúnculo grosso, mas mais curto que os seus ramos, armado com pequeno espinho apical; o ramo interno é maior que o externo, tem espinhos na face superior, e àpicalmente 3 espinhos em lancetas curtas e 1 grande espinho oblíquo; espinhos do ramo externo — 4 súpero-marginais, 1 sub-apical, 1 apical losangular.

O mais curto dos urópodos é o 3.º par, tem os ramos mais curtos que o pedúnculo, ramo interno com 2 espinhos súpero-marginais e 2 apicais; ramo externo com espinhos finos, armados 2 a 2, em forma de V, na face superior, e 4 espinhos finos apicais.

Telson inteiro, não fendido, alcançando a metade do pedúnculo do último urópodo, é sub-ovóide, tem 4 cerdas súpero-posteriores.

Comprimento do animal — na posição figurada, da fronte até a extremidade dos urópodos tem 6.5 milímetros. om a 1.ª antena alcança um total de 8.5 milímetros.

Coloração — em vivo amarelo creme cortiça, listrado de havana, muito transparente.

Habitat — Próximo entre e sôbre as ascídias *Tethium plicatum* Lessuer, no canal Ilha do Pinheiro até Ilha da Sapucaia, pelas épocas de Junho e Julho dos anos 1939-1948 quando tal material foi abundante nesta região da Baía de Guanabara.

Material — Tipo, macho, um exemplar capturado por Luiza Krau, em 10 de Agôsto de 1948, montado nas seguintes lâminas, catálogos da Estação de Hidrobiologia: n.º 1286-1293.

II ANALÍTICA

O contôrno do crustáceo *Autonoe conicurvae* é o de um conjunto articulado, cujo estudo cinemático é transcendente, mas, considerando-o apenas estàticamente, na sua posição parada depois de recém-morto, antes da retração por fixação pelo formol, apresenta os seguintes resultados por análise geométrica:

Matemàticamente falando, as curvas planas da silhueta dorsal dêste crustáceo, referidas em função de coordenadas cartesianas, descrevem uma parte do arco mono-focal gerado pelo desenvolvimento de:

$$y = \left(\frac{x}{2}\right)^2 + \frac{x}{2^3} \quad \text{I}$$

tal função se anulando nos pontos x' e $x'' = \frac{-1 \pm \sqrt{65}}{4}$ que são suas raízes desiguais e reais; sua derivada primeira $y' = x^2 - 1/8$ se anula

Fig. 1

para — 1/4, onde está o eixo da curva, e neste eixo esta curva passa por um mínimo, que é — 65/64; sua derivada segunda $y'' = 2x$. Num ponto em que a ordenada encontra a abcissa com metade de seu valor, quando $y = 2x$, isto é, em $x = 8$ e $y = 16$, está um eixo não transverso de outras curvas bifocais cujos dois focos, o que era infinito na monofocal, recolheu-se para $y = 22$, e o outro, subiu até $y = 10$, foco real ($B = 10$) resultando contornos arredondados regidos pelas equações da forma: $x - y' = A\sqrt{B^2 - y^2}$, conforme a figura 1, que finalmente definida, é a seguinte curva:

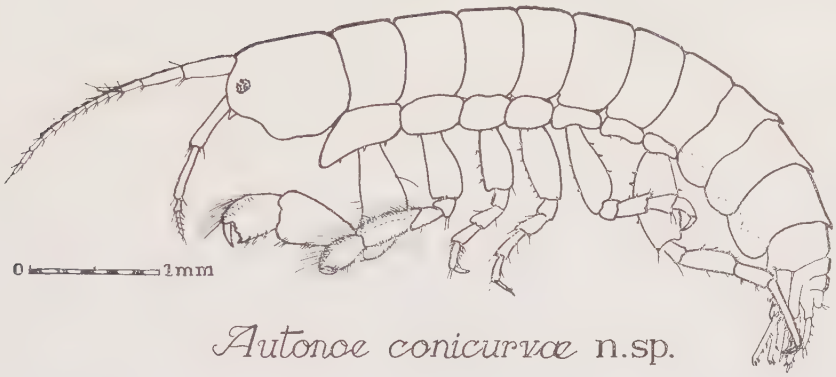
$$x - \frac{1}{4} = \pm \frac{5}{4}\sqrt{100 - (y - 16)^2}$$

Desenho instrumental — Armar os parabológrafos e elipsógrafos de tal modo que descrevam as curvas geradas pelas equações de *Autonoe conicurvae,* isto é,

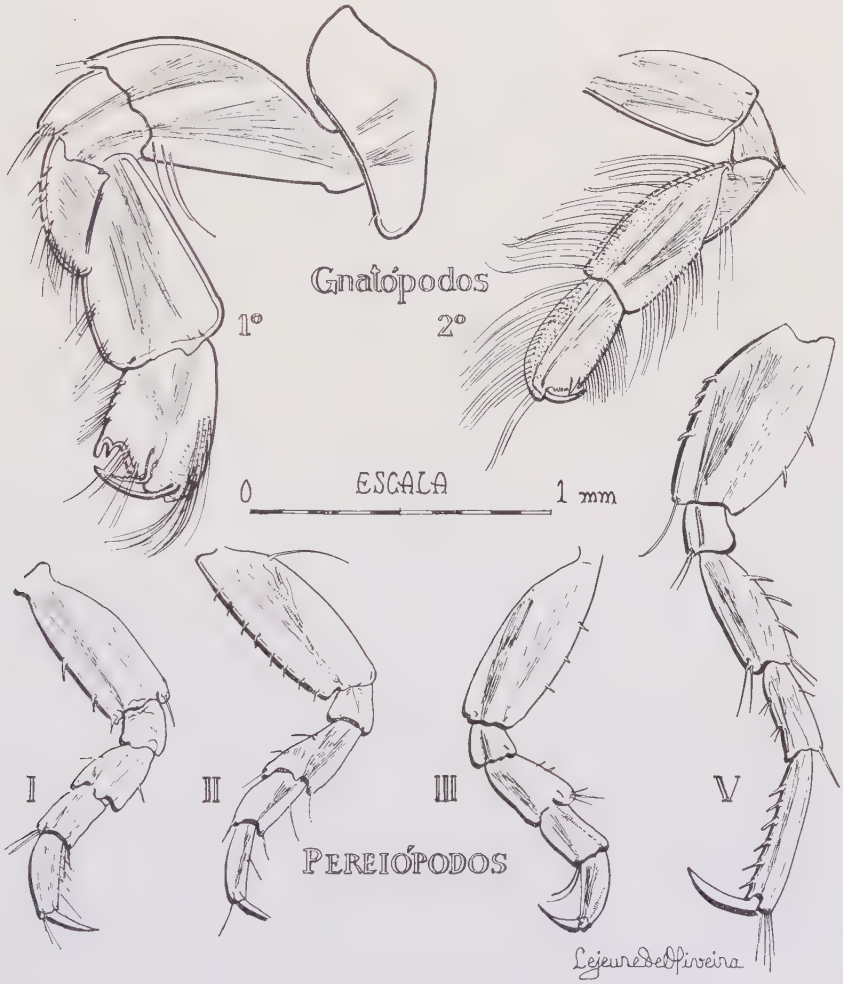
$$2x^2 + x - 8 = 8y$$

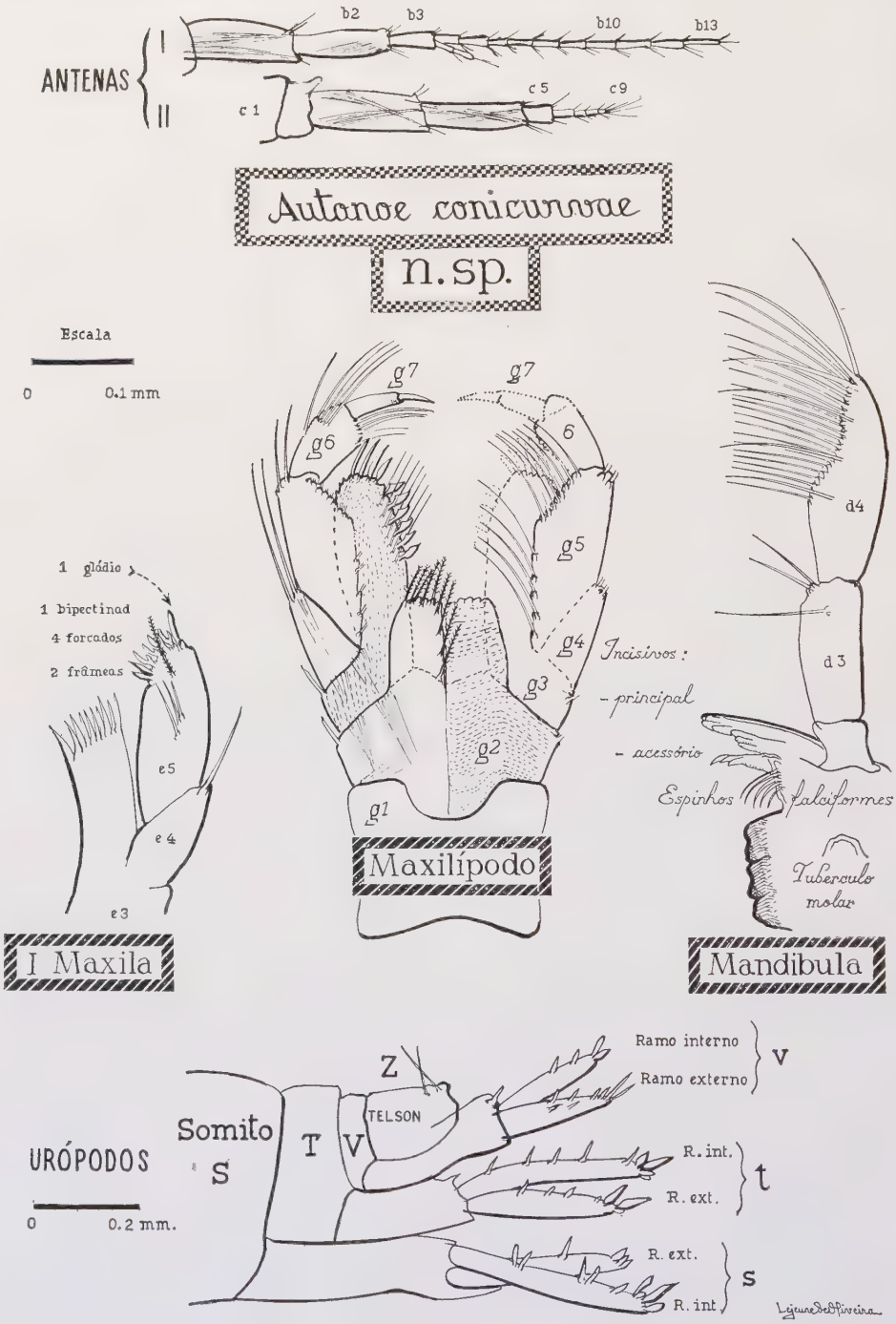
$$x = \pm 0.8\sqrt{100 - (y - 16)^2}$$

Traçando sôbre o papel, sôbre o desenho do animal feito em câmara clara, tal traçado geométrico cobre gràficamente o contôrno dorsal natural do crustáceo.



Autonoe conicurvae n.sp.




ANTENAS
I
II
b2
b3
b10
b13
c1
c5
c9
Autonoe conicunnae
n.sp.
Escala
0
0.1 mm
g7
g7
g6
6
g5
g4
g3
g2
g1
Maxilípodo
1 gládio
1 bipectinad
4 forcados
2 frâmeas
e5
e4
e3
I Maxila
Incisivos :
- principal
- acessório
Espinhos falciformes
Tubérculo molar
d4
d3
Mandíbula
URÓPODOS
0
0.2 mm.
Somito
S
T
V
Z
TELSON
Ramo interno
Ramo externo
V
R. int.
R. ext.
t
R. ext.
R. int
s
Lejeune de Oliveira

Espécies Novas do Herbario do Dr. Adolpho Lutz

Melastomataceae
Tibouchina Lutzii Brade n. sp.

por

A. C. Brade

(Involucrales); Fruticosa 1-2 m alta; r a m i s tetragonis, setis breviusculis rigidis, arcte adpressis, basi incrassatis, densiuscule vestitis, demum glabrescentibus; f o l i i s breviter petiolatis, rigidis, parvis, oblongo-ovatis, utrinque acuminatis, apice acutiusculis, margine integerrimis, leviter revolutis et crasse adpresse setoso-ciliatis, 3-nerviis vel obscure 5-nerviis, 2,5-5 cm longis, 1-2 cm latis, supra opacis glabris, sub lente tenuiter punctatis, in sicco tabacino-nigrescentis, subtus adpresse denseque albescente-pilosis et ad nervos adpresse strigoso-setosis; p e t i o l i s 3-5 mm longis, teretiusculis, setis rigidis crassiusculis adpressis dense vestitis; f l o r i b u s ad apices ramulorum ternis subpaniculatis, majusculis, brevissime pedunculatis; b r a c t e i s 2, magnis, ovatis, intus glabris, extus breviuscule setulosis; c a l y c e setis rigides, inferne incrassatis densiuscule adpresse vestito, tubo ovato, 5 mm longo, 4 mm crasso, segmentis ovato-oblongis, apice rotundatis, extus setulosis, margine ciliatis, tubo paulo longioribus, 7 mm longis, 5 mm latis; p e t a l i s violaceis, obovatis, 15-18 mm longis, 12-16 mm latis, margine ciliatis; s t a m i n i b u s satis inaequalibus, filamentis inferne sparsissime pilosis, 8-10 mm longis, majoribus connectivo infra loculis breviuscule producto, basi eglanduloso, antherae 7-10 mm longae; o v a r i o 5-loculare, densiuscule piloso; s t y l o 12-13 mm longo, glaberrimo.

Habitat: Brasilia, Estado de São Paulo, Serra da Bocaina, leg. Adolpho et Bertha Lutz N.º 1962, Dez. de 1930. Herbário Prof. Adolpho Lutz N.º 1 962 — Serra da Bocaina, 1 700 m s. n. do mar leg. A. C. Brade N.º 20 675 — 21.4.1951 ("Typus"), Herbário Jardim Botânico do Rio de Janeiro N.º 74 124.

* Entregue para publicação a 13 de Maio de 1955.

Tibouchina Lutzii Brade n. sp.

Fig. 1. Habito, tam. nat. — Fig. 2. Cálice estendido, 2 x aum. — Fig. 3. Cálice visto de lado, 3 x aum. — Fig. 4. Ovário com estilete, 3 x aum. — Figs. 5 e 6. Estames 3 x aum.

A posição desta espécie é após *Tibouchina floribunda* Cogn. No hábito assemelha-se a *Tibouchina Schwackei* Cogn. mas distingue-se bem desta pelo revestimento diferente e a côr alva da página inferior da folha.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Art ist hinter *Tibouchina floribunda* Cogn. einzureihen. Im Habitus der *Tibouchina Schwackei* Cogn. aehnlich, aber, durch andere Bekleidung und die auffaellig weisse Unterseite der Blaetter, gut unterschieden.

Compositae: Mutisia Lutzii G. M. Barroso n. sp.

Graziela Maciel Barroso
Chefe da Divisão de Botânica Sistemática do Jardim Botânico

Frutex scandens, ramulis angulatis, dense et persistenter albo lanuginosis; folia alterna, pectinata basi auriculata, rachi in cirrhum spiralem trifurcatum desinente; segmentis linearibus, obtusis, dorso persistenter albo tomentosis, facie areneosis, inferioribus 0,30 mm longis, 0,12 mm latis, superioribus minoribus; pedunculo axilari, circa 9-15 cm longo, albo lanuginoso; involucri bracteis exterioribus acutis linear-lanceolatis, 3 cm longis, 1-2 mm latis, dorso tomentosis; interioribus dorso glabris marginibus dense lanuginosis, longe acuminatis; ligulis dorso araneosis; pappi setis conspicue plumosis, circa 0,27 mm longis.

Achaenia matura non vide.

Typus: — Herbarium A. Lutz n.º 1200 *Habitat*: in Serra do Caparaó, Minas Gerais, *Leg.*: Adolpho Lutz, 1200 (8.3.1917). R. 76362, leg. Prof. Bruno Lobo (XI-922) in Planalto do Caparaó Minas Gerais.

Planta muitíssimo interessante, que se distingue das demais espécies do gênero pela forma pectinada da folha.

Dedicamos a linda espécie ao Dr. Adolpho Lutz, eminente sábio, que tanto trabalhou em prol da ciência, no Brasil.

SUMMARY

A very interesting *Mutisia* distinguished from the other species of the genus by the pectinate leaf.

Dedicated to the eminent Brazilian scientist, Dr. Adolpho Lutz.

Mutisia Lutzii G. M. Barroso n. sp.

Orchidaceae Lutzianae

por

Guido F. J. Pabst
da Soc. Botânica do Brasil

Foi-nos confiada, recentemente, pela Dra. Bertha Lutz, a coleção de orquidáceas do herbário de seu pai, o Prof. Dr. Adolpho Lutz, que haviam sido colhidas nas diversas viagens dêsse eminente cientista, cujo centenário de nascimento será em breve comemorado.

Se bem que não muito volumosa, essa coleção apresenta, no entanto, espécies bem interessantes, tanto sob o ponto de vista de sua raridade, como pelo seu habitat, apresentando-se em regiões onde não se supunha a sua existência, ampliando-se, assim, consideràvelmente, o raio de sua dispersão geográfica.

Queremos deixar registrados aqui os nossos agradecimentos pela oportunidade que nos foi dada em contribuir, dentro da nossa especialidade, ao estudo do material do herbário dêste grande cientista patrício que foi o Prof. Dr. Adolpho Lutz.

HABENARIA Willd.

1 — *H. fastor* Warm. & Hoehne 1940 in Fl. Brsca. **12**(1):71-t.15

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, perto dos limites do Estado do Rio — Adolpho e Bertha Lutz n.º 1 738 (ex-1 751) jan. 1925; mesmo local — A. & B. Lutz n.º 1 972 (ex 1 959), dez. 1930

2 — *H. fluminensis* Hoehne 1939 in Arq. Bot. Est. S. Paulo **1**(2):41-t.46

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito — Adolpho Lutz n.º 366 (ex 355) 15-30.1.1913.

É a primeira vez que esta espécie é constatada na Bocaina. Antes só era conhecida de Petrópolis, Rio (Tijuca), Itatiaia e São Paulo.

3 — *H. mattogrossensis* Krzl. 1911 in Kgl. Sv. Vet. Akad. Handl. **46**(10):14-t.1-f.4

Rio Grande do Norte: Entre Macaíba e a Lagoa de Pararaca, em campo (Taboleiro) Adolpho e Bertha Lutz (Herb. Lutz n.º 1 847) (ex 1 915).

---

* Recebido para publicação a 30-5-1955.

É curioso o aparecimento no Rio Grande do Norte desta planta antes só conhecida no Mato Grosso. Segundo a Dra. Bertha Lutz nos informa, também batráquios da bacia do Paraguai foram encontrados no extremo nordeste, portanto certamente outros elementos surgirão para que a relação dessas duas regiões mereça um estudo mais aprofundado sob o ponto de vista ecológico.

4 — *H. parviflora* Lindl. 1835 in Gen. & Sp. Orch. Pl.: 314

Minas Gerais e Espírito Santo: Campos de Caparaó — Adolpho Lutz n.º 1 242, (ex 1 262) 9.2.17

Santa Catarina: São Bento, R. Fischer s/n — fev. 1916

5 — *H. repens* Nutt. 1918 in Gen. N. Am. Pl. 2:190

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, Adolpho e Bertha Lutz n.º 62 e 62-A, jan. 1925 (Herb. Lutz n.º 1 739 (ex 1 770)

6 — *H. rupicola* Rodr. 1882 in Orch. Nov. 2:225

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, nos limites do Estado do Rio, Adolpho Lutz, n.º 738 (ex 700) — fev. 1915; mesmo local, A. & B. Lutz, n.º 1953 — dez. 1930; mesmo local, A. & B. Lutz, n.º 726 — fev. 1915.

7 — *H. secunda* Lindl., 1835 in Gen. & Sp. Orch. Pl.:307

Distrito Federal: Pico da Tijuca — Adolpho Lutz, n.º 1 085 (ex 1 075) — 4.6.1916.

CLEISTES L. C. Rich.

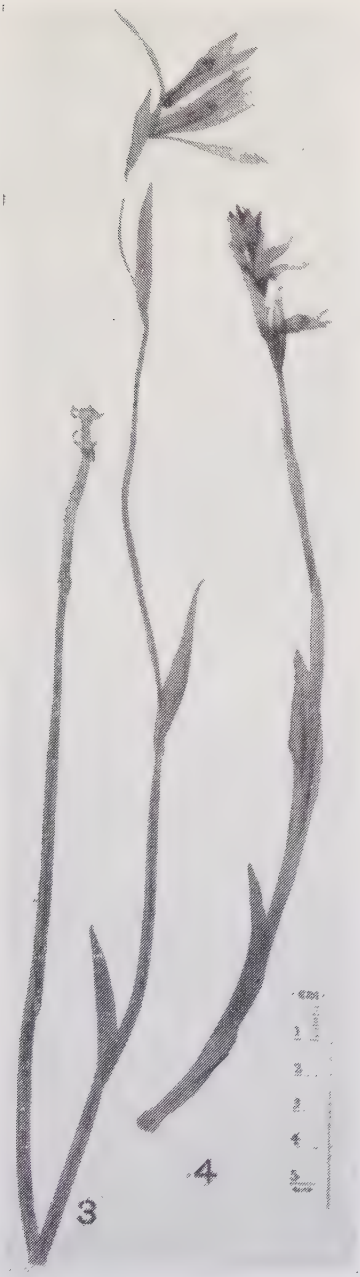
8 — *C. mantiqueirae* Rchb. f. & Warm., 1881 in Otia Bot. Hamb. 2:81

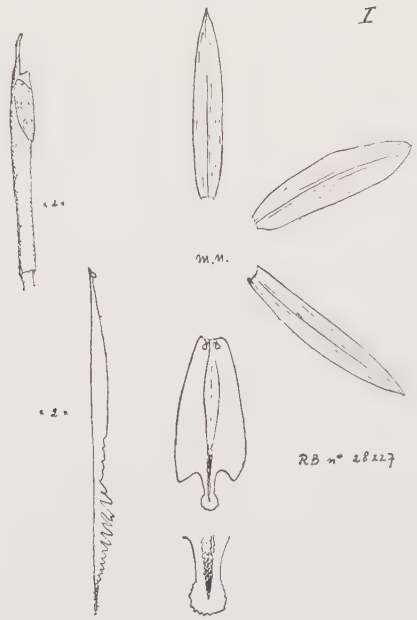
São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, Adolpho Lutz, n.º 736 (ex 701), fev. 1915.

Minas Gerais: Ouro Prêto, H. Souza Araujo, n.º 124 — 1912 (Herb. Lutz, n.º 2 076).

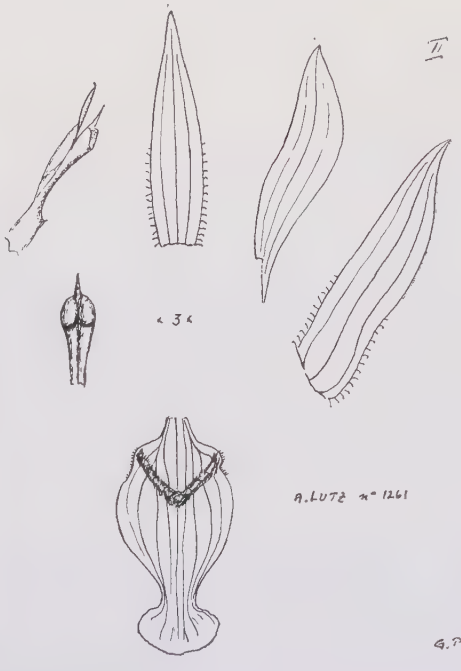
9 — *Cleistes itatiaiae* Pabst n. sp.

Terrestris, gracili, usque ad 55 cm alta; *radicibus* fusco-brunneis, subfiliformibus, flexuosis, villosulis; *caulibus* erectis, leviter sinuosis, glabris, ad 3 mm crassis, dimidio inferiore distante 2-vaginatis; vaginis subfoliaceis, semioblongis, acutis, 1 — 2,5 cm longis, inferne caulem amplectentibus; dimidio superiori 2-foliatis; *foliis* erectis quam internodia minoribus, sessilis, anguste lanceolatis, 4 — 5,5 cm longis, 6 — 7 mm latis; *bracteis* foliis simillimis, 2 — 3 cm longis; *floribus* semper singulis, erectis vel erecto-patulis, dilute violaceis; *sepalis* lineari-oblongis, acutis,





1 e 3. *Cleistes itatiaiae* Pabst n.sp.



2 e 4. *Stenorrynchus lutzii* Pabst n.sp.

multinervis, dorsale 3 — 3,5 cm longo, 5 mm lato; lateralibus paulo obliquefalcatis, 3 — 3,5 cm longis, 6 — 7 mm latis; *petalis* oblongis, acutis, margine apicem versus irregulariter crenulatis, 3 — 3,4 cm longis, 9 mm latis, multinervulosis; *labello* ambitu oblongo, interduum anguste obovato, 5-apicali in isthmo breve vix vel non cuneato constricto, hunc trilobo, lobis lateralibus parvis, triangularibus, subacutis, lobo terminali parvo, rotundato, margine crispulo, 3-4 mm in diamet.; disco basin minute globuloso-bicalloso, usque ultra medium bilamelato, apicem versus lamellae 4 primum crenatae, deinde profunde lineari-lobulatae, postice verruculoso et in centrum lobo terminali convergentibus; toto labello 3 — 3,5 cm longo, 1,2 cm lato; *columna* gracile, erecta, teretiuscula, 2 cm alta; fovea stigmatica subcordata; *ovario* cilindraceo, glabro, sessili, 1,5-2 cm longo, 2 mm crasso.

Habitat: Brasilia, Estado do Rio de Janeiro, Itatiaia, Último Adeus, 800 msm; leg. P. Campos Pôrto, n.º 2 811, 9.1.1936; TYPUS in Herb. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, n.º 28 227; E. Ule, n.º 287, Itatiaia, Rio de Janeiro, 1 000 msm; São Paulo, Bocaina, nos limites do Estado do Rio, Adolpho & Bertha Lutz, n.º 59, jan. 1925 (Herb. Lutz, n.º 70).

Aproveitamos o ensejo para publicar aqui esta nova espécie, cuja diagnose já tínhamos pronta, com base em material encontrado por Ule e P. Campos Pôrto no Itatiaia e que agora também ficou registrada para a Bocaina com os exemplares ali encontrados pelo Prof. Lutz.

O Dr. F. C. Hoehne classificou esta planta como sendo *Cleistes gracilis* (Rodr.) Schltr. (Flora Brasílica **12**(1):222-1940) e o seguimos nisso dando uma ilustração dos detalhes florais (Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1952, **12**-tab.1-f.II-B). No entanto, depois de termos visto uma planta encontrada em Minas Gerais por G. A. Black & Magalhães, n.º 51-11 761, que apresentamos à 5.ª Reunião Anual da Sociedade Botânica do Brasil num trabalho sôbre as orquídeas do Herbário do Instituto Agronômico do Norte e que aqui reproduzimos nos detalhes florais, chegamos à conclusão de que a planta do Itatiaia e a da Bocaina precisam ser mantidas separadas do *Cleistes gracilis*, já que a ilustração da mesma não é tão estilizada como se supunha, o que poderá ser comprovado mediante comparação do Black & Magalhães n.º 51-11 761 com a ilustração da Flora Brasiliensis. Não tendo sido possível identificar a planta do Itatiaia com nenhuma espécie conhecida, a propomos como nova, com o nome de *Cleistes itatiaiae*.

Dr. F. C. Hoehne considered this plant to be *Cleistes gracilis* (Rodr.) Schltr. (Flora Brasilica **12**(1):222-1940) and we followed him giving an illustration of the flower details (Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro vol. **12** — t.1-f.II B, 1952). However, after seeing a plant collected in Minas Gerais by G. A. Black & Magalhães n.º 51-11761 which we presented to the 5th. Annual Meeting of the Bot. Society of Brazil in a paper on the Orchids of the Instituto Agronômico do Norte, and which plant corresponds very well with Rodrigues' species, we came to the conclusion that the Itatiaia and Bocaina plant

must be kept separate from it. Since we were not able to identify it with any other known species, we propose it as new with the name *Cleistes itatiaiae*.

STENORRHYNCHUS L. C. Rich.

10 — *Stenorrhynchus lutzii* Pabst nov. sp.

Terrestris, 5 — 40 cm altis; *radicibus* fasciculatis, crassiusculis, flexuosis; *caulibus* erectis, basin versus ca. 5 mm crassis, glabris, dimidio inferiore laxe trifoliatis, foliis sensim in vaginas longas, lanceolatas, caulem omnino involventes decrescentibus; *foliis* basilaribus absunt; foliis caulinis erectis, late lanceolatis, basi vaginantibus, acutis, 4 — 10 cm longis, 10 — 13 mm latis; *inflorescentiis* congestis (8-floris) torquatis; *bracteis* magnis, lanceolato acuminatis, 25 mm longis, 5 mm latis, sursum sensim decrescentibus; *floribus* magnis, fide collectori flavidis; *sepalis* 3-nerviis, dorso basin glanduloso-puberula; intermedio lanceolato, apice subacuto, 15 mm longo, 3,2 mm lato; lateralibus lanceolato-oblongis, paulo obliquis, acutis, inferne mentum brevem, conicum formantibus, 18 mm longis, 4 mm latis; *petalis* decurrentibus, sigmoideo-lanceolatis, acutis, 3-nerviis, glabris; *labello* satis concavo e basi cuneato-unguiculato, deinde in laminam late-ovatam, margine basin versus minutissime fimbriatam expanso, in partem 1/3 apicalem in isthmo 2,2 mm lato constricto, lobo apicali transverso-elliptico; disco supra basim cum callo V-formi, valde carnoso ornato, toto labello 15 mm longo, 7 mm lato, lobo apicali 2,7 mm longo, 5 mm lato; *columna* sensim clavata, 9 mm longa, rostello breviusculo, aciculato, rigido, quem anthera paulo breviore, 1,5 mm longo.

Habitat: Brasilia, Campos de Caparaó, Estados de Minas Gerais e Espírito Santo; leg. Adolpho Lutz 9-12.3.1917; *Typus* in Herb. Lutz, n.º 1 243 antigo 1 261; Isotypus in Herb. auct. n.º 2 278.

Êste novo *Stenorrhynchus* se reconhece à primeira vista pela forma de seu labelo, que se distingue por ter o lóbulo mediano do labelo transversalmente elítito, o que não foi observado, até agora, em nenhuma outra espécie do gênero.

É com prazer que dedicamos esta espécie ao seu descobridor como homenagem póstuma pelas suas coleções botânicas, ramo da ciência que, apesar de não ser de sua especialidade, sempre mereceu sua atenção e carinho.

The transverse-elliptic midlobe of the lip is a good characteristic of this new species, since no other *Stenorrhynchus* is known to bear it.

We are glad to dedicate this species to its discoverer in a posthumous hommage for his field activity. Botany though not Dr. Lutz's special field, always received his attention and interest.

MASDEVALLIA Ruiz & Pav.

11 — *M. infracta* Lindl. 1833 in Gen. & Sp. Orch. Pl.:193

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito. Adolpho e Bertha Lutz, n.º 886 (ex 843), 15-27.2.1915.

PLEUROTHALLIS R. Br.

12 — *P. grobyi Li*ndl. 1835 in Bot. Reg. 21-t.1797.

Distr. Federal: Rio de Janeiro, Tijuca, A. Lutz, n.º 502 (ex 508), maio 1913.

13 — *P. rubens* Lindl. 1835 in Bot. Reg. 21-t.1797

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, Adolpho e Bertha Lutz, n.º 1 975 (ex 1 956), 12.1930.

EPIDENDRUM Linn.

14 — *E. bulbosum* Vell. 1827 in Fl. Fl. Ic. 9-t.11; Tect. edit. Netto 1881 in Arch. Mus. Nacional Rio 5 : 358 (syn. *E. inversum* Lindl.).

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, A. Lutz 452 (ex 438), abril 1913 e E. latro).

15 — *E. alexandri* Schltr. 1922 in Ann. Mem. Inst. But. 1(4):60-t.13/II

Santa Catarina: São Bento — A. Lutz, n.º 661 (ex 626), jan. 1914.

16 — *E. ellipticum* Grah. 1826 in Edinb. New Phil. Journ. 1:171

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, A. Lutz, n.º 453 (ex 439), abril 1913.

17 — *E. weddellii* Lindl. in Folia Orch., Epid.:67

Minas Gerais e Esp. Santo: Campos de Caparaó — leg. Zikán n.º 26, 18-22.2.1915.

SOPHRONITIS Lindl.

18 — *S. grandiflora* Lindl. 1838 in Sert. Orch. t.5-f.2

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, A. Lutz, n.º 558 (ex 440), abril 1913; mesmo local, A. Lutz, n.º 739 (ex 699),

CYRTOPODIUM R. Br.

19 — *C. blanchettii* Rchb. f. 1849 in Linneaea 22:852

Minas Gerais: Lassance, Serra do Cabral, A. Lutz, n.º 1 598 (ex 1 657), 9.12.1919.

Pelo que nos consta, esta espécie só era conhecida do tipo de Blanchet, da Bahia, e dos espécimens colhidos por WARMING e ST. HILAIRE em Minas Gerais. É uma das espécies mais raras nos herbários, o que certamente se atribui ao fato de crescer entre gramíneas, sendo reconhecida sòmente quando em flor.

20 — *C. paranaense* Schltr. 1920 in Fedde Repert. **16**:333

Distr. Federal: Rio d'Ouro, Caixa d'Água, no chão, A. Lutz, n.º 1 156 (ex 1 173), out. de 1916.

CATASETUM L. C. Rich

21 — *C. cernum* (Lindl.) Rchb. f. 1863 in Walp. Ann. Bot. 6570.

Rio de Janeiro: Bom Fim, Linha Auxiliar, A. Lutz, n.º 851 (ex 860), nov. 1915.

STENOCORYNE Lindl.

22 — *S. vitellina* (Lindl.) Krzl. 1896 in Rchb. f., Xenia Orch. 3:142

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, A. Lutz, n.º 559 (ex 356), 10, Out. 1913 15-30.1.1913.

23 — *Stenocoryne* sp.

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, A. Lutz, n.º 367 (ex 354), em dúvida por estar sem flores; provàvelmente também *S. vitellina,* por ser do mesmo local de procedência.

ZYGOPETALUM Hook.

24 — *Z. maxillare* Lodd. 1831 in Bot. Cab. t.1776

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, Adolpho e Bertha Lutz, n.º 740 (ex 702), fev. 1915.

ONCIDIUM Sw.

25 — *O. flexuosum* Sims 1 821 in Bot. Mag. t. 2 203

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, Adolpho e Bertha Lutz, n.º 1 974 (ex 1 957), dez. de 1930.

26 — *O. gomesii* Cogn. 1906 in Fl. Brs. 3(6):444

São Paulo: Bocaina, Fazenda do Bonito, Adolpho e Bertha Lutz, n.º 1 740 (ex 1 752), jan. 1925.

Êste interessante *Oncidium* cresce entre capim em terreno pedregoso e caracteriza-se pelo rizoma muito longo (até 10 cm entre pseudo-

bulbos, os quais são redondos e um pouco espessados na base). O labelo é esbranquiçado ou rosado e pintalgado de roxo.

27 — *O. montanum* Rodr. 1877 in Orch. Nov. 1:93

Minas Gerais e Esp. Santo: Campos de Caparaó, leg. Zikán n.º 26 (junto com o *Epidendrum weddellii*), 18-22.2.1915 (Herb. Lutz, n.º 2 198-B).

28 — *O. sprucei* Lindl. 1855 in Folia Orch. Onc.:14

Bahia: Canoa, Barra do Rio Grande, desembocando no rio São Francisco; A. Lutz, n.º 199 (ex 190), 12.6-1912.

Rio de Janeiro, agôsto de 1954.

Transplantação de baço de coelho com mixoma infeccioso na câmara anterior do ôlho da cobaia. Sôbre a degeneração mixomatosa. Inclusões intranucleares.*

pelos

Drs. C. Magarinos Torres e **Rita A. de Almeida Cardoso**

(Com 5 estampas)

Continua despertando interêsse a heterotransplantabilidade de tumores malignos e processos afins, no período atual, que constitui o terceiro, no ponto de vista histórico (Morris, McDonald & Mann, 1950) e no qual ela é confirmada pela maioria dos trabalhos. No primeiro período, foi ela terminantemente negada, sendo contraditórios os resultados, no período imediato.

Verificamos, anteriormente (Magarinos Torres & Rita Cardoso, 1949) que fragmentos do tecido conjuntivo de lesões cutâneas de mixoma infeccioso do coelho não apresentam crescimento autônomo substancial, quando implantados na câmara anterior do ôlho da cobaia. Obtém-se, apenas, ligeiro aumento do número de células (fibrocitos e células de mixoma), na zona fértil.

Células de mixoma, com estrutura bem conservada, existiam em 23.8% dos implantados, até o 15.º dia de implantação. Depois dêsse prazo, mostraram elas necrobiose e necrose.

Com os fragmentos colhidos entre o 10.º e o 21.º dias de implantação, conseguimos, em 26% das experiências, reproduzir a doença típica.

No presente trabalho, damos conta do que sucedeu quando o material de implantação era constituido por fragmentos de baço de coelhos com mixoma. A verificação do vírus foi realizada, apenas, duas vêzes: uma, em fragmento com 17 dias de implantação, e outra, com 24 dias. Nos dois casos, foram obtidas lesões típicas de mixoma em coelhos normais inoculados com os fragmentos.

Um resultado inesperado, foi a presença de inclusões intranucleares em alguns dos fragmentos transplantados (Figs. 6, 7, 8 e 10). Eram

Entregue para publicação a 18-5-55.

vistas em grandes células mononucleares, na vizinhança de vasos sanguíneos e em células fusiformes.

O material mostrou-se favorável, ainda, ao estudo das relações entre fibras conjuntivas e a degeneração mixomatosa.

MATERIAL E TÉCNICA

A técnica usada foi a mesma referida no trabalho anterior. Os cortes do material, incluidos em parafina, foram corados pela hematoxilina-eosina, pelo método tricrômico de Masson e, em alguns casos, impregnados para evidenciação de fibras reticulares (método de Gömori). A observação com o microscópio de contraste de fases foi feita correntemente, visto como dispúnhamos do microscópio Zeiss-Opton, onde tal operação está muito simplificada.

Nosso material compreende 120 fragmentos de baço de coelho, com mixoma, implantados na câmara anterior do ôlho de 72 cobaias e um fragmento reimplantado.

Os fragmentos de baço foram retirados de coelhos que se encontravam no 7.º dia de infecção, em 6 casos; no 8.º dia, em 43 casos; no 9.º dia, em 19 casos e no 10.º dia, em 8 casos. Em 44 outros casos, não conseguimos indicação precisa sôbre o dia de doença em que se encontrava o coelho doador do fragmento. Ao todo, usamos 19 coelhos infectados pelo virus do mixoma, sendo que, várias vêzes, o mesmo animal forneceu transplantados para diversas cobaias.

Em 42 casos, o exame histológico do material implantado foi feito no 6.º dia de implantação; em 8 casos, no 7.º; em 2 casos, no 8.º; em 24 casos, no 9.º; em 14 casos, no 10.º; em 4 casos, no 11.º; em 6 casos, no 12.º; em 2 casos, no 13.º; em 1 caso, no 14.º; em 7 casos, no 17.º e em 3 casos, no 18.º.

Tentamos, também, oito vêzes, a reimplantação do fragmento cultivado durante alguns dias, no globo ocular de uma nova cobaia. Apenas em um caso, obtivemos resultado positivo, ou seja, a presença de tecido de mixoma, após 10 dias de permanência na segunda passagem.

O material de comparação (testemunha) constou de doze fragmentos de baço de coelho normal, implantados com a mesma técnica mencionada e examinados com 9, 12 e 16 dias de permanência. Na maioria dêsses fragmentos, o exame histológico permitiu o fácil reconhecimento da cápsula e trabéculas conjuntivas do baço, o que se explica pelo fato de termos colhido, sempre, fragmentos de baço retirados da superfície do órgão.

Em dois implantados testemunhas examinados no fim de 9 dias, verifica-se ativa proliferação de células fusiformes (fibrocitos), sendo obscurecida a arquitetura da polpa esplênica. Hemátias bem conservadas são encontradas, então, em áreas subjacentes à cápsula (hemorragias), existindo capilares sanguíneos de nova formação, na zona próxima dos tecidos da íris (Figs. 1 e 2).

Em oito implantados testemunhas examinados no fim de 12 dias, a reabsorção do material primitivo de baço é avançada e nêles, apenas a cápsula e trabéculas conjuntivas podem ser reconhecidas (Fig. 3). A parte central do fragmento é constituida por fibrocitos típicos, formando tecido uniforme. Em alguns dêles, aparecem aderências anormais entre a íris e a córnea, em outros existindo células gigantes de corpo estranho na íris, em região próxima do implantado.

Finalmente, em dois implantados testemunhas, examinados no fim de 16 dias, a reabsorção do tecido esplênico é quase completa, sendo o material implantado representado, apenas, por faixas de tecido fibroso contendo poucos núcleos, os quais identificamos à cápsula do baço. Também, aqui, a parte central é formada por tecido uniforme, contendo fibrócitos típicos.

No material testemunha observa-se, assim, reabsorção da polpa esplênica e sua substituição por tecido compacto, formado dominantemente, por fibrócitos típicos. (Fig. 4). A cápsula e trabéculas conjuntivas do baço podem ser ainda reconhecidas no 16.º dia de implantação.

DESCRIÇÃO

A transplantação na câmara anterior permite a observação em "câmara lenta" das fases sucessivas das alterações teciduais.

A êsse propósito, Towbin (1951) distingue 3 fases fundamentais, que seriam a de suspensão, a de nidação e a de crescimento.

Em nosso trabalho, não levamos em conta a fase de suspensão, tendo observado as de nidação e de crescimento.

Segundo a sistematização do referido autor, o mixoma infectuoso estaria no grupo dos tumores transplantados que atingem a fase de crescimento.

Em 42 transplantados examinados 6 dias após a transplantação, é possível reconhecer, em quase todos, a cápsula e trabéculas conjuntivas do baço (Figs. 5 e 9) e, em alguns, a polpa esplênica com extensa necrose de esplenocitos.

Em todos notamos a presença de tecido mixomatoso de nova formação, quase sempre relacionado com a cápsula do baço. Com forte aumento, aparecem numerosas células de mixoma, aparentemente oriundas de fibrocitos e de células endoteliais. Por vêzes elas se dispõem lado a lado, formando tecido compacto, o qual constitui a maior parte do transplantado (Fig. 11); algumas vêzes, as células de mixoma aparecem de permeio com células pigmentadas da íris, como se invadissem esta estrutura.

O tecido mixomatoso neoformado é irrigado por numerosos capilares sanguíneos oriundos da íris; algumas vêzes aparecem áreas hemorrágicas, na sua vizinhança imediata (Fig. 5).

Em outro aspecto, notado na maioria dos transplantados, as células de mixoma aparecem afastadas entre si, razão pela qual, quando examinadas com fraco aumento, tais zonas se destacam das circunvizinhas pela sua coloração mais clara. Êsse aspecto caracteriza a degeneração

mixomatosa, em sua fase inicial. Tal processo regressivo é, geralmente, discreto, sendo excepcional que ocupe área extensa do implantado (Figs. 5 e 9).

Os 42 transplantados examinados 6 dias após a implantação, provinham de 4 coelhos doadores diferentes; em 5 dêsses transplantados, oriundos de 2 coelhos doadores, encontramos inclusões intranucleares típicas. De um dos doadores, foram examinados 11 implantados e encontradas inclusões em 4; do outro doador, foram examinados 10 implantados e encontradas inclusões, apenas, em 1. As inclusões intranucleares são vistas sob a forma de corpúsculos acidófilos, geralmente ovóides, localizados na porção central do núcleo, separados da membrana nuclear por espaço claro (figs. 6, 7, 8 e 10). A membrana nuclear é espessada de modo descontínuo, mostrando, algumas vêzes, grânulos que lembram "corpúsculos orbitais", tais os representados nas figs. 1 e 2 de Potenza e Klanke (1954). Na fig. 10 a célula com inclusão pertence à adventícia de um vaso sangüíneo. Na maioria dos casos, contudo, é impossível a identificação das células com inclusões, convindo notar que, com freqüência, se encontram próximas de células típicas de mixoma (Fig. 10).

Em 8 globos oculares examinados 7 dias após a implantação, nota-se que grande parte do transplantado é constituida por tecido mixomatoso neoformado, com degeneração mixomatosa circunscrita, vascularizado à custa da íris. Êsse tecido desloca a cápsula e restos da polpa esplênica necrosada para a porção mais afastada da íris.

Em 2 transplantados examinados 8 dias após a transplantação, existe tecido mixomatoso neoformado; em um dêles, as células, bem coradas, formam tecido compacto, que ocupa grande parte do implantado; no outro, o tecido mixomatoso forma menos de metade do implantado e mostra degeneração mixomatosa. O exame dêsse foco de degeneração, pelo método de Gömori para fibras reticulares, mostra delicado retículo de fibras argirófilas, algumas das quais com tumefações globulares isoladas ("bulb formation") e formação de rosário. As malhas mais delicadas do retículo argirófilo são ocupadas por substância amorfa que, aparentemente, corresponde à que se tinge em azul claro pela hematoxilina-eosina.

Fibras colágenas (em castanho claro), são vistas ao lado das argirófilas (fibras de reticulina), de idêntico calibre.

Nem sempre conseguimos reconhecer estruturas do baço em 24 implantados, no 9.º dia de implantação (Fig. 14). Em alguns vê-se, apenas, a cápsula (Fig. 12); em outros, porém, todo o implantado é representado por tecido mixomatoso neoformado, com células mixomatosas dotadas de núcleos bem corados, alguns de dimensões gigantescas. Tais células formam tecido compacto na vizinhança da íris, da qual recebem abundante vascularização (Fig. 14). Na porção mais afastada da íris, os tecidos são necrosados ("zona asfíxica") sendo que, em sua

vizinhança imediata, encontra-se degeneração mixomatosa típica (Fig. 14). Tanto aí, como no mixoma do coelho, as fibras conjuntivas mais volumosas coram-se em róseo, pela hematoxilina-eosina, ao passo que as mais delicadas, dispostas em retículo, tingem-se em azul claro, o mesmo acontecendo à substância amorfa contida nas malhas do retículo.

A degeneração mixomatosa, tão típica nesses implantados de 9 dias, foi, também, estudada, com o microscópio de fase, em preparações pelo tricrômico de Masson.

Pela microscopia de fase, as fibras conjuntivas em continuidade com o citoplasma de fibrocitos e de células de mixoma resolvem-se em delicadas fibrilas, idênticamente coradas. Nas malhas do retículo então formado aparece substância amorfa, pàlidamente corada em azul.

Aparecem aqui, de modo mais evidente, as curiosas alterações das fibras conjuntivas, já mencionadas em implantados de 8 dias, impregnados pelo método de Gömori. As fibras com tumefação globular se apresentam, às vêzes, sob a forma de rosário; outras vêzes, a tumefação é isolada, formando bulbos; ao passo que as fibras conjuntivas coram-se em azul pelo tricrômico, os glóbulos e bulbos tingem-se intensamente em violeta quase negro (Fig. 13). Chama a atenção, em alguns globos oculares, a intensa reação inflamatória na íris. Também na córnea, na região que faz face ao implantado, a reação inflamatória é intensa, sobrevindo, às vêzes, aderências entre córnea e implantado (Figs. 12 e 14).

Em 12 implantados examinados 10 dias após a implantação, também, nenhuma estrutura do baço originária de implantado foi encontrada (Figs. 15 e 16).

Na íris, vê-se, contudo, tecido mixomatoso, algumas vêzes formado por células bem conservadas, providas de núcleos gigantescos, dispostas lado a lado (fig. 17), com degeneração mixomatosa em focos de contornos circulares (Figs. 15 e 16). Outros pontos dignos de nota, neste material, são a inflamação purulenta da íris e a aderência do implantado à córnea (Fig. 15).

Em 4 implantados examinados após 11 dias de implantação, em 6 examinados após 12 dias, em 2 examinados após 13 dias e em 1 examinado após 14 dias, a cápsula e traves conjuntivas do baço são reconhecidas em alguns, sendo ausentes em outros. Muitas vêzes o tecido mixomatoso neoformado interpõe-se entre aquelas estruturas e os tecidos da íris.

Lesões inflamatórias intensas existem na íris e na porção da córnea situada em face do implantado. A degeneração mixomatosa é extensa.

Também, nesse grupo, foram observadas no microscópio com luz normal e no de fase, em preparação pela hematoxilina-eosina e pelo tricrômico de Masson, pronunciadas alterações das fibras conjuntivas, re-

lacionadas com a degeneração mixomatosa, já referidas na descrição dos implantados de 8 dias.

Em 8 implantados examinados após 17 dias de implantação, em 3 examinados após 18 dias, em 1 examinado após 19 dias, em 2 examinados após 21 dias e em 1 examinado após 24 dias, freqüentemente o material é representado apenas por tecido mixomatoso com extensa degeneração mixomatosa.

Algumas vêzes, em implantados volumosos, as células de mixoma são bem conservadas nas margens, mostrando extensa necrobiose e necrose, na parte central, onde existe degeneração mixomatosa. Nos fragmentos de 17 dias, a inflamação da córnea em face do implantado é pronunciada, mostrando tendência a desintegração dos tecidos. Nos implantados de 19 e 21 dias, o tecido mixomatoso estabelece aderências permanentes entre íris e córnea inflamadas.

Um detalhe interessante, nestes implantados com maior permanência, é a inflamação purulenta com extensa necrose dos leucócitos, observada na vizinhança imediata das zonas com degeneração mixomatosa.

DISCUSSÃO

Os resultados que agora referimos, conseguidos com transplantação de baço de coelho mixomatoso na câmara anterior do ôlho da cobaia, foram mais favoráveis do que os anteriormente referidos, com transplantação de fragmentos de lesões cutâneas de mixoma (Tôrres e Cardoso, 1949). Na presente série, obtivemos freqüentemente nova formação de tecido mixomatoso, cujas células, bem conservadas e dispostas lado a lado, formavam tecido compacto, abundantemente vascularizado, à custa da íris.

As lesões observadas no baço do coelho com a doença natural variam segundo a fase da moléstia. Nos primeiros estádios, nota-se acentuada hiperplasia de células do retículo, ao passo que os folículos linfóides são relativamente bem conservados. Em período mais adiantado, acentua-se essa hiperplasia de células do retículo, ao mesmo tempo que o número de linfócitos diminui gradualmente, chegando, mesmo, a se tornar escasso nos folículos. Nunca as células formam, no baço, nódulos distintos, com aspecto de blastoma. Êstes, observados posteriormente no transplantado, aí se originaram, razão pela qual, a êles nos referimos como tecidos de nova formação.

O hipercromatismo e o pleomorfismo nucleares, conduzindo à formação de núcleos gigantescos (Figs. 18 e 19), assim como a intensa multiplicação pseudo-amitótica das células mixomatosas (Fig. 19), foram observados em grande escala e em ótimas condições, no tecido mixomatoso dos transplantados. Tais caracteres são, justamente, os que aproximam o mixoma infeccioso do coelho dos verdadeiros blastomas malignos.

Segundo MAGARINOS TÔRRES (1944), as células de mixoma representariam formas simplificadas de mitose (mitose alterada), com características que a aproximam da pseudo-amitose. Durante todo o processo desta modalidade de divisão celular, a conservação da membrana nuclear constitui detalhe característico, distinguindo-o da mitose típica. O aumento considerável de volume (hipertrofia), tanto do núcleo, como do citoplasma, as modificações da forma do núcleo, a hipercromatose do retículo de linina, o aumento da quantidade e condensação da cromatina em massas ("mulberries") com estrutura heterogênea (bastonetes cromófilos, cromosomos?, e porção intermediária menos cromófila) são aspectos inerentes ao processo de mitose alterada, dando em resultado modificações apreciáveis dos fibroblastos, fibrocitos e células da adventícia dos vasos sanguíneos nas lesões do mixoma as quais levaram os autores ao emprêgo de designação especial para tais células (chamadas "células de mixoma").

O crescimento autônomo do mixoma de coelho em terreno heterólogo é outra confirmação da semelhança acima aludida com verdadeiros blastomas malignos. A hèterotransplantabilidade, segundo GREEN e LUND (1944), seria característica do câncer, dizendo GREENE (1951), posteriormente, que ela significa autonomia pronunciada, gradualmente adquirida pelo tumor maligno.

A degeneração mixomatosa aparece no tecido mixomatoso neo-formado, já nos implantados mais recentes. Em sua fase inicial, tal processo se reconhece pelo afastamento das células, muitas em necrobiose e necrose. Pode ela ser reconhecida, fàcilmente, com fraco aumento, pela sua coloração clara (Figs. 9, 12, 14, 15, 16). Os espaços claros interpostos entre as células são ocupados por fibras conjuntivas, predominantemente reticulares, conforme evidencia o método de GÖMORI. Em fase mais adiantada, além das alterações precedentes, nota-se substância amorfa, localizada nas malhas do retículo, colorida pàlidamente em azul pela hematoxilina-eosina, em material fixado no formol.

O emprêgo do tricrômico de MASSON e do microscópio de fase revela curiosas alterações das fibras conjuntivas, constando de tumefação e formação de glóbulos, irregularmente distribuídos. Outras vêzes, os glóbulos se apresentam isolados (formação de bulbos) ou, então, com aspecto de rosário (Fig. 13). Tais alterações se traduzem por modificação da coloração; assim, os glóbulos coram-se intensamente em violeta quase negro, contrastando com a porção restante da fibra, corada em azul. Lesões semelhantes são, também, evidenciadas pelo método de GÖMORI.

Nos implantados de 17 dias, células de mixoma bem conservadas existem, apenas, nas margens dos fragmentos mais volumosos, ao passo que, na sua porção central, aparece extensa degeneração mixomatosa, sem nenhuma célula viável. O estudo de nosso material leva-nos a supor que a degeneração mixomatosa seja posterior à necrobiose e necrose

das células de mixoma, significando alterações regressivas de fibras e fibrilas por estas elaboradas, assim como da substância fundamental.

Em outras palavras, a degeneração mixomatosa atingiria a substância fundamental do tecido conjuntivo e as fibras conjuntivas de células que sofreram prèviamente necrobiose e necrose.

A degeneração mixomatosa, também, parece relacionada com a idade do fragmento implantado, sendo mais extensa nos de duração mais longa. Freqüentemente, então, são vistos heterófilos, em sua maioria necrosados, na zona limítrofe entre a degeneração mixomatosa, quando extensa, e a íris da cobaia. Parece que tal processo degenerativo conserva, longo tempo, a propriedade de agente irritante enérgico. Confirmação dessa última hipótese, seriam o grau mais intenso da inflamação da íris, nas mesmas condições de observação e a freqüência com que a inflamação da íris se propaga à córnea com a qual o implantado entra, eventualmente, em contato. Os implantados mais idosos podem, mesmo, estabelecer aderências permanentes entre íris, córnea e cristalino.

Verificamos diferenças entre os aspectos dos transplantados de baço normal e de baço mixomatoso. Nos de baço normal, até mesmo 15 dias após a transplantação, era sempre fácil reconhecer a cápsula do baço, assim como precisar os limites entre material implantado e íris da cobáia (Figs. 1, 2 e 3).

Ao contrário, nos transplantados de baço mixomatoso, a cápsula, as traves conjuntivas e a polpa esplênica, reconhecíveis nos primeiros dias (figs. 5 e 9), não mais o são posteriormente (Figs. 12, 14 e 16).

Não é raro que estas estruturas pertencentes ao baço sejam circundadas por tecido mixomatoso neoformado, delas aparentemente originados; por vêzes, mesmo, a cápsula e traves conjuntivas, recalcadas para a periferia do transplantado, são separadas da íris por tecido mixomatoso consideràvelmente desenvolvido.

Outro resultado apreciável, foi a verificação de inclusões intranucleares típicas (Figs. 6 e 8) em células de identificação difícil, algumas parecendo originárias da adventícia de vasos sanguíneos (Fig. 10); existiam elas em 5 dentre 42 fragmentos, provenientes de 4 doadores diferentes, examinados 6 dias após a transplantação.

Muitos autores consideram as inclusões citoplasmáticas do virus do mixoma, descrita pelo Rivers, como significativas, ao passo que outros não puderam encontrá-las. Não achamos, contudo, na literatura, provas convincentes sôbre inclusões intranucleares relacionadas com tal virus.

A primeira hipótese a formular sôbre estas inclusões, seria a de que o vírus do mixoma, colocado nas condições especiais aqui apontadas, daria origem a êsse tipo de inclusão. Contudo, em outra hipótese mais provável, elas seriam produzidas por algum outro vírus contaminante (vírus da glândula submaxilar da cobaia, vírus do herpes, tão freqüente em infecções inaparentes, no coelho, etc.).

Realizamos a pesquisa do vírus de mixoma em 2 implantados, num dêles 17, noutro 24 dias após a implantação. Nos dois casos, foram obtidas lesões típicas de mixoma em coelhos normais inoculados com êsse material.

Uma vez dentre 8 tentativas de retransplantação, conseguimos obter tecido de mixoma após 10 dias de permanência na segunda passagem.

O tipo de metabolismo da vitamina C, completamente diverso no coelho e na cobaia, indica que tal fator não tem importância em relação ao sucesso da transplantação do mixoma, ao contrário do que observa GREENE (1949), a propósito da transplantação dos blastomas verdadeiros.

CONCLUSÕES

1 — Em 12 experiências, o baço de coelho normal transplantado para a câmara anterior do ôlho da cobaia apresenta reabsorção gradual, tal como acontece, de modo geral, nas transplantações heterólogas. A reabsorção tem início evidente no nono dia, sendo quase completa no décimo sexto dia de implantação.

2 — O baço de coelho mixomatoso, no qual as células mixomatosas se apresentam esparsas e isoladas, dá origem, em 120 implantações na câmara anterior do ôlho da cobaia, a tecido mixomatoso de nova formação. Tal tecido recebe abundante vascularização da íris da cobaia, sendo constituido por células fusiformes semelhando fibrocitos e por elementos com a estrutura nuclear típica de células do mixoma, consideradas, geralmente, como tendo origem principal em fibrocitos e em células da adventícia de vasos sanguíneos.

As células de mixoma tornaram-se capazes de crescimento progressivo em hospedeiro heterólogo, possuindo, assim, as características das células de blastomas malignos, observadas nas mesmas condições.

A formação de áreas claras, de contornos circulares (ação de uma substância difusível?) associadas à degeneração mixomatosa constitui aspecto microscópico conspícuo.

3 — O tecido mixomatoso de nova formação, obtido em transplante heterólogo, mostra degeneração mixomatosa idêntica à do mixoma infectuoso do coelho. O emprêgo da microscopia de fase e dos métodos tricrômico de MASSON e de GÖMORI para fibras reticulares, revela alterações da substância fundamental e das fibras conjuntivas e células de mixoma, relacionadas, aparentemente, com a degeneração mixomatosa. As fibras mais numerosas, nas áreas com degeneração mixomatosa, são fibras reticulares (método de GÖMORI). Algumas são túmidas, mostrando formação de bulbos ou glóbulos, os quais, pelo tricrômico de MASSON, se tingem em violeta quase negro, de modo diverso das porções intermediárias da fibra, coradas em azul. Por vêzes, as formações globulares são isoladas ("bulb formation"), outras vêzes dispõem-se em

série, à maneira das contas de um rosário ("globular swelling, rosary formation"). Também, por êste método, algumas fibras conjuntivas coradas em azul, apresentam as margens intensamente tintas, lembrando, dêsse modo, tubos.

As malhas mais delicadas do retículo argirófilo (método de Gömori), são ocupadas por substância amorfa, correspondendo à que se tinge em azul claro, nos preparados pela hematoxilina-eosina.

O citoplasma das células de mixoma cora-se intensamente em azul, de modo aparentemente homogêneo, nos preparados pelo tricrômico de Masson, examinados com luz ordinária. No microscópio de fase, contudo, desaparece o aspecto homogêneo, existindo, na realidade, massas grosseiras e irregulares, contíguas.

4 — Dentre quarenta e dois fragmentos transplantados, provenientes de quatro doadores diferentes, examinados no sexto dia de transplantação, cinco (11,9%) mostram inclusões intranucleares típicas. Os fragmentos onde existem inclusões intranucleares provêm de dois doadores diferentes. De um dos doadores, foram examinados onze fragmentos, sendo encontradas inclusões intranucleares em quatro. Do outro doador, foram estudados dez fragmentos e encontradas inclusões intranucleares, apenas, em um.

SUMMARY AND CONCLUSION

Heterotransplantability of myxoma of rabbits was formerly demonstrated when grafts from subcutaneous tissue in skin lesions were used (Magarinos Tôrres & Rita Cardoso, 1949).

Better results are reported in this paper when grafts from the spleen of infected rabbits were employed. While grafts from normal spleen are almost completely absorbed in sixteen days, those from infected rabbits give origin to full-grown and vascularised tissue in which typical myxoma cells are the predominant elements.

Progressive growth of heterotransplantated myxoma cells is another similarity between infectious myxoma and malignant tumors.

Formation of clear areas of circular contour (interference of a diffusible substance?) associated to myxomatous degeneration is very conspicuous.

Peculiar changes of the ground substance, reticular and collagenous fibers (globular swelling, rosary and bulb formation) apparently related to myxomatous degeneration are described.

An unexpected finding was the presence of typical intranuclear inclusion bodies in five among forty-eight grafts examined in the sixth day.

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Henrique Aragão, muito agradecemos o fornecimento do vírus do mixoma usado neste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

GREENE, H. S. N. & LUND, P. K. — The heterologous transplantation of human cancers. *Cancer Research 4*,6:352-363, 1944.

GREENE, H. S. N. — Heterologous transplantation of the Brown-Pearce tumor. *Cancer Research 9*,12:728-735, 1949.

GREENE, H. S. N. — A conception of tumor autonomy based on transplantation studies: a review. *Cancer Research 11*,12:899-903, 1951.

MAGARINOS TORRES, C. — Sôbre a hiperplasia celular no mixoma infectuoso do coelho. *Mem Inst. Oswaldo Cruz 41*,2:283, 1944.

MAGARINOS TORRES, C. e CARDOSO, RITA A. DE ALMEIDA — Implantação do mixoma infeccioso do coelho na câmara anterior do ôlho da cobaia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz 46*,3:581-593, 1949.

MORRIS, D. S. & DONALD, J. R. & MANN, F. C. — Intra-ocular transplantation of heterologous tissues. *Cancer Research 10*,1:36-48, 1950.

POTENZA, E. & KLANKE, H. — Citomegalia (protozoan-like bodies) en niños sudamericanos. *Arch. Venez. Puer. y Ped. 17*:11-12, 1954.

TOWBIN, A. — A study of tumor tissue after transplantation; histologic changes observed in anterior-chamber transplantation of heterologous tumor tissue. *Arch. Path. 52*,3:199-209, 1951.

Figura 1: — Fragmento de baço normal de coelho implantado na câmara anterior do olho de cobaia, sacrificada no 9.º dia de implantação (P.C.14.635).

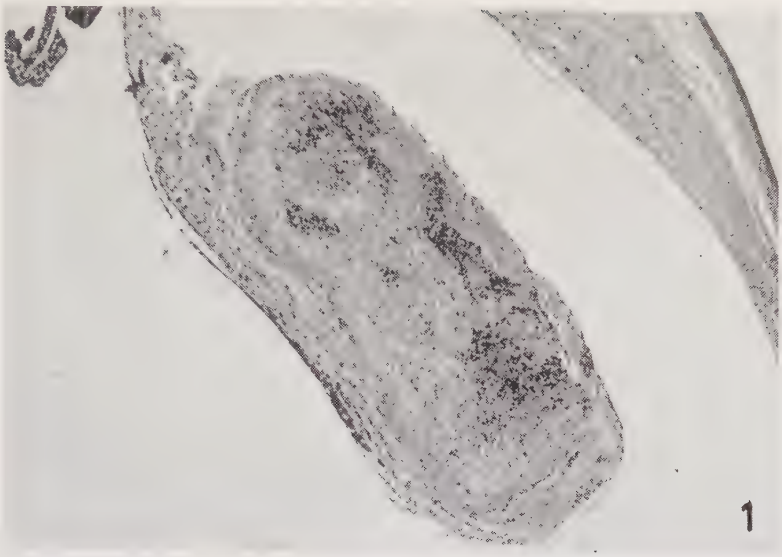
Material inserido na iris, cujos tecidos são reconheciveis em sua porção marginal. Polpa esplênica, em sua quase totalidade, substituída por células fusiformes (fibrocitos), fibras colágenas e vasos sanguineos oriundos da iris. A unica estrutura reconhecivel claramente como pertencente ao baço implantado é a sua capsula fibrosa que se vê na margem livre do material. As partes mais intensamente coradas correspondem a capilares sanguineos de nova formação oriundos da iris. A estreita orla de tecido compacto que separa a iris do material implantado corresponde a fibrocitos em ativa multiplicação. Em raros campos aparecem restos da polpa esplênica representados por células com cariorrexis e cariolise. Nenhum exsudato na câmara anterior do olho. Tricrômico de Masson. x 35

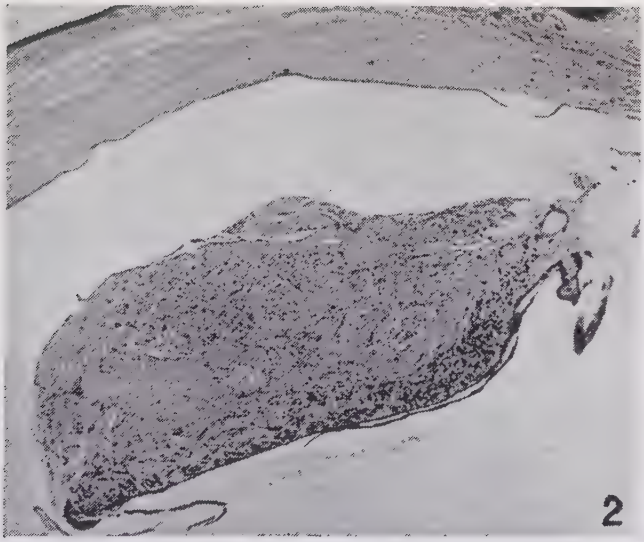
Figura 2: — Fragmento de baço normal de coelho implantado na câmara anterior do ôlho de cobaia, sacrificada no 9.º dia de implantação (P.C. 14.636).

Material inserido na iris, sendo reconhecivel, na extremidade, o corpo ciliar. Do fragmento implantado restam, apenas, a capsula e algumas traves fibrosas limitando lojas esplênicas. Polpa esplênica inteiramente substituída por fibrocitos, fibras colágenas e vasos sanguineos oriundos da iris. Grande numero de células pigmentadas caracterizam a iris, na margem inferior. Nenhum exsudato na câmara anterior. Hematoxilina-eosina. x 35

Figura 3: — Fragmento de baço normal de coelho implantado na câmara anterior do olho de cobaia, sacrificada no 12.º dia de implantação (P.C. 14.649).

Material inserido no bordo pupilar da iris, representado, em sua quase totalidade, pela capsula do baço. O desaparecimento total da pôlpa esplenica e, ainda, a grande redução do tecido fibroso oriundo da iris, explicam a deformação da capsula e seu contôrno sinuoso. Câmara anterior sem exsudato inflamatorio. Tricrômico de Masson. x 35


1


2

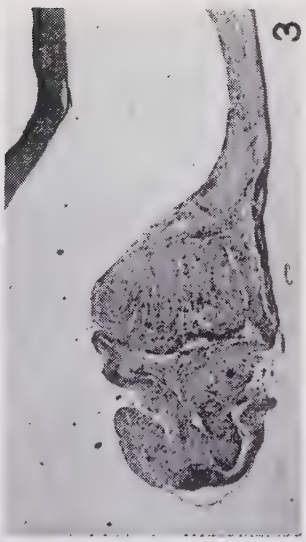

3

Figura 4: — Fragmento de baço de coelho com mixoma, no 6.º dia de implantação na câmara anterior do olho de cobaia (P.C. 14.655). As areas claras correspondem a tecido mixomatoso oriundo da capsula do baço, com início de degeneração mixomatosa. Na parte central, restos da pôlpa esplenica, circundados por zona hemorrágica.

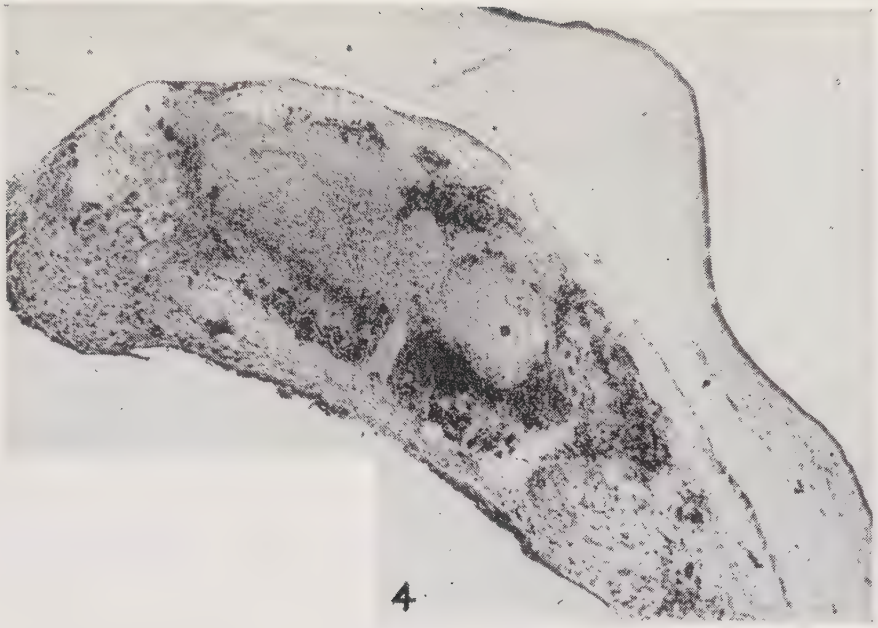
Tricrômico de Masson x 35

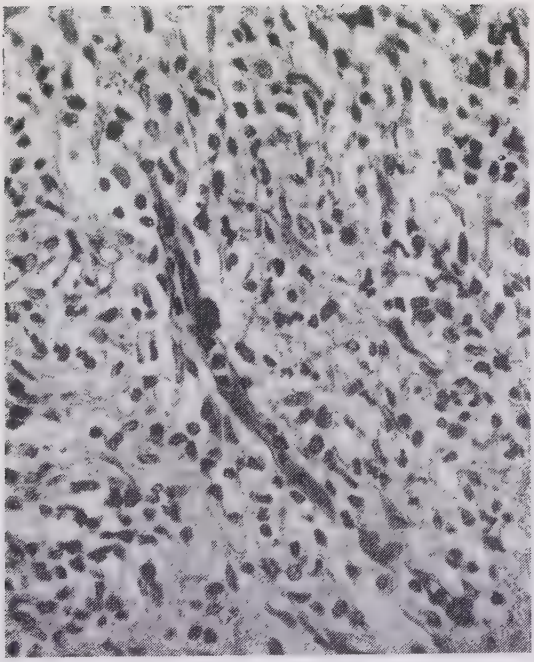
Figura 5: — Fragmento de baço normal de coelho implantado na câmara anterior do olho de cobaia, sacrificada no 16.º dia (P.C. 14.631).

A pôlpa esplenica foi inteiramente substituida por tecido conjuntivo vascularizado oriundo da iris. Tricrômico de Masson. x 380.

Figura 6: — Mesmo material representado na Fig. 4.
Inclusões intranucleares. x 860

Figura 7: — Mesmo material representado na Fig. 4.
Inclusões intranucleares. x 860


4



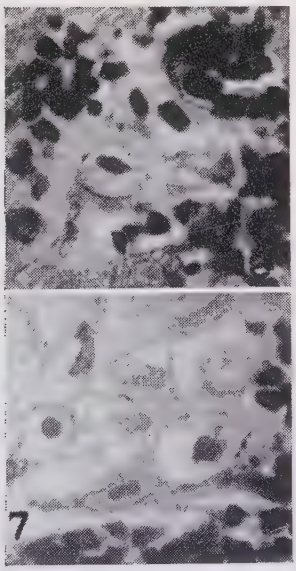

7

Figura 8: — Mesmo material representado na Fig. 4.

Inclusões intranucleares em células da vizinhança da cápsula. Em tais pontos existe ativa proliferação de fibroblastos e formação de células de mixoma viaveis. Tricrômico de Masson x 860

Figura 9: — Fragmento de baço de coelho com mixoma, no 6.º dia de implantação na iris da cobaia (P.C. 14.664).

Proliferação de fibroblastos e de células de mixoma viaveis na "zona fertil" (à esquerda), situada entre células pigmentadas da iris (em baixo) e restos da capsula (em cima). Area clara circular, junto da "zona asfixica", associada a degeneração mixomatosa.

Tricrômico de Masson x 35

Figura 10: — Mesmo material representado na Fig. 9.

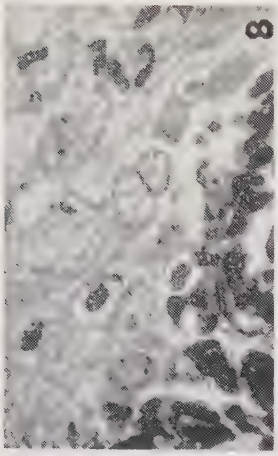
Inclusão intranuclear tipica em célula da parede de vaso sanguineo. Junto deste, células de mixoma viaveis.

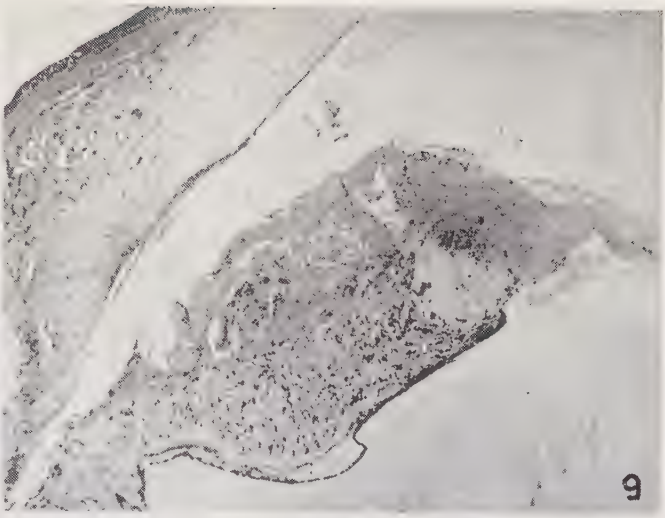
Tricrômico de Masson. x 860

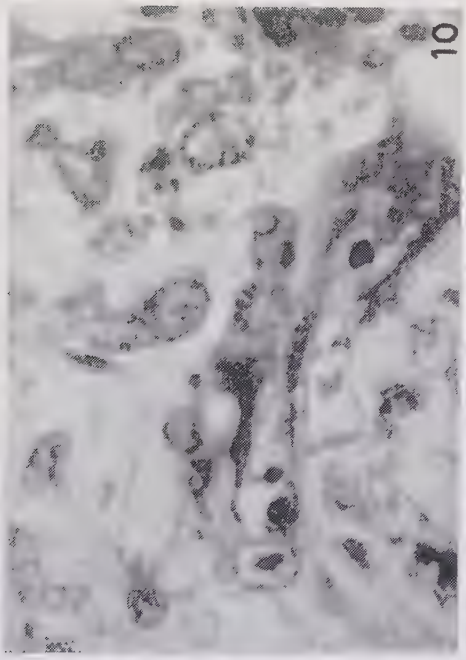
Figura 11: — Tecido mixomatoso formado no fragmento de baço de coelho no 6.º dia de implantação na iris da cobaia (P.C. 15.587).

Na porção inferior, à esquerda, células de mixoma dispostas lado a lado, formando tecido compacto. Fase inicial de formação de area clara associada à degeneração mixomatosa, em torno de vaso sanguineo.

Tricrômico de Masson. x 170.


8


9


10

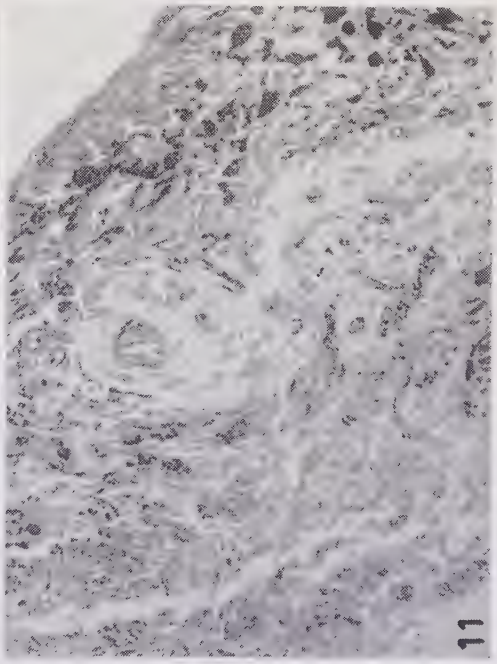

11

Figura 12: — Fragmento de baço de coelho com mixoma, no 9.º dia de implantação na iris da cobaia (P.C.15.491).

O fragmento está inserido na iris e adere à cornea, na qual existe inflamação. As areas claras correspondem a focos de degeneração mixomatosa.

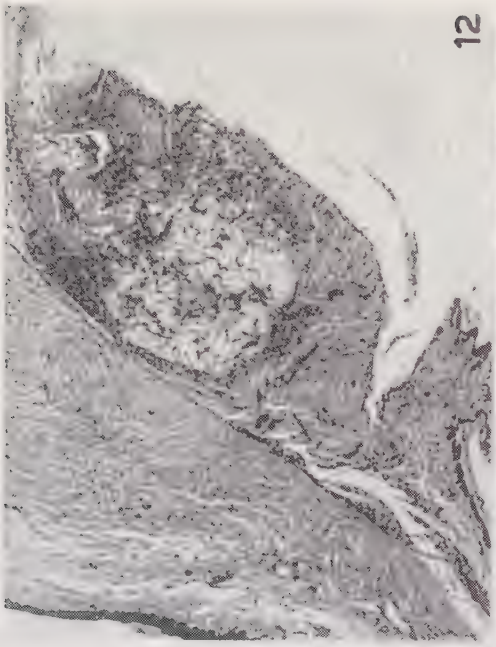
Tricrômico de Masson. x 35

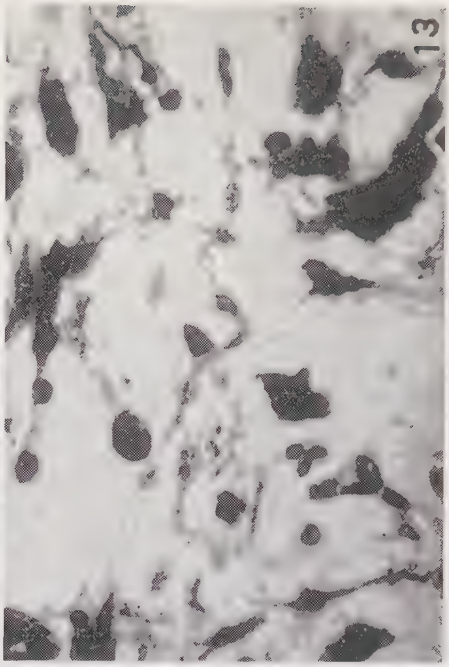
Figura 13: — Mesmo material representado na Fig. 12.

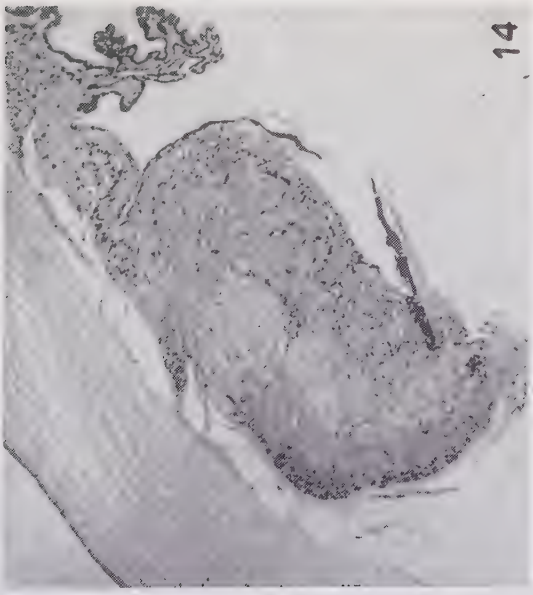
Alterações das fibras colágenas, as quais mostram tumefação e formação de globulos e de bulbos, ocorrendo em foco com degeneração mixomatosa. x 860

Figura 14: — Fragmento de baço de coelho com mixoma (P.C.15.623), no 9.º dia de implantação na iris da cobaia, no qual se vê a "zona asfixica" (porção esquerda e superior). Junto dela, areas claras com degeneração mixomatosa. Na parte restante, células de mixoma viaveis, organizadas em tecido compacto. Vasos sanguíneos na vizinhança da iris. Hematoxilina-eosina. x 35.

Figura 15: — Fragmento de baço de coelho com mixoma (P.C.14.573), no 10.º dia de implantação na iris da cobaia, aderindo em larga extensão à cornea inflamada. Tres areas claras de contornos circulares associadas à degeneração mixomatosa. Tricrômico de Masson. x 35


12


13


14

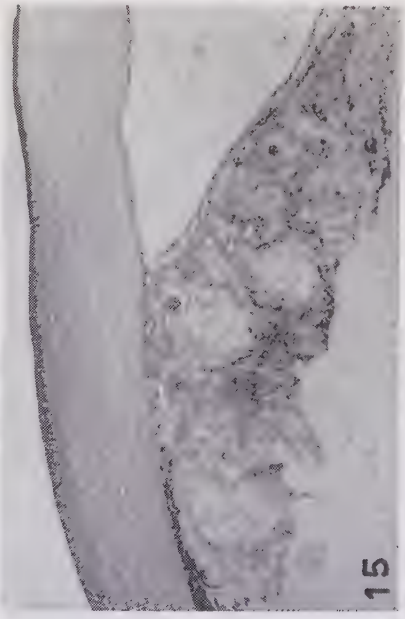

15

Figura 16: — Fragmento de baço de coelho com mixoma (P.C.15.607), no 10.º dia de implantação na iris da cobaia.

Tecido formado por células de mixoma dispostas de modo compacto, entremeadas com elementos da iris, na porção marginal.

As areas claras representam tecido mixomatoso de nova formação com degeneração mixomatosa.

Não é possivel mais reconhecer, nenhuma estrutura primitiva do baço que serviu de implantação.

Tricrômico de Masson. x 35

Figura 17: — Mesmo material representado na Fig. 16.

Tecido compacto formado, predominantemente, por células de mixoma típicas, viaveis, tendo de permeio células pigmentadas da iris.

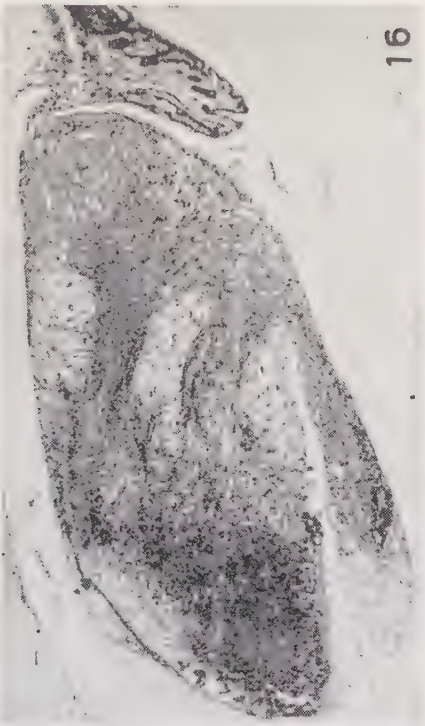
x 170

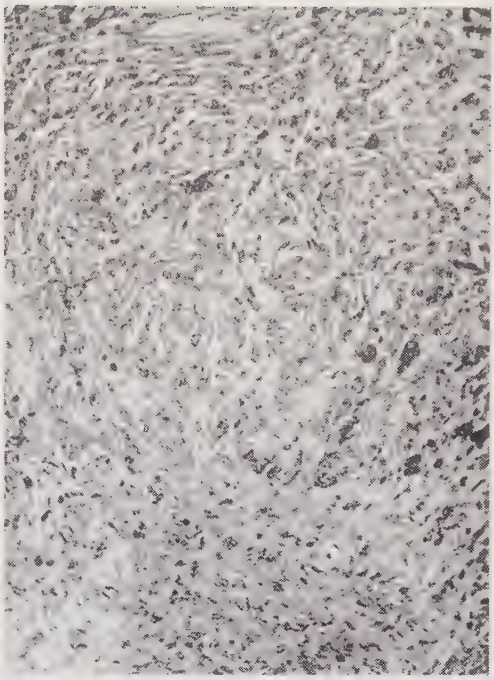
Figura 18: — Vista com maior aumento da Fig. 17.

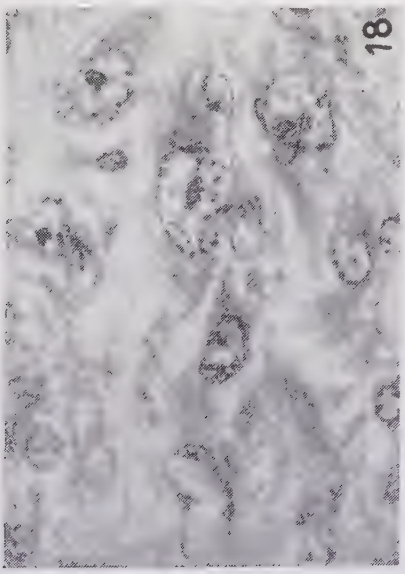
Células de mixoma tipicas. x 860

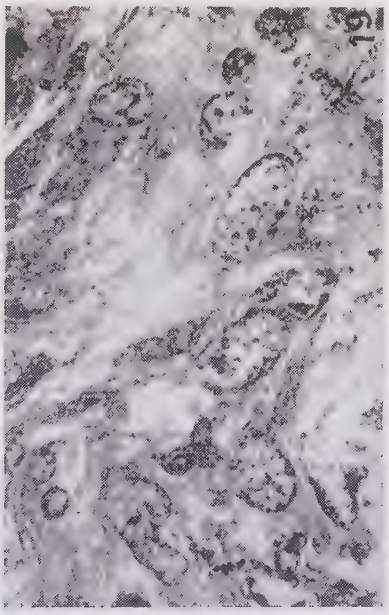
Figura 19: — Vista com maior aumento da Fig. 17.

Células de mixoma típicas, uma delas em divisão pseudo-amitótica. x 860


16


17


18


19

Morfologia do Mycobacterium leprae hominis e do M. leprae muris. Estudo baseado na microscopia electrônica e de contraste de fases*

pelo

Dr. H. C. de Souza-Araujo

(Do Instituto Oswaldo Cruz e Membro do Comitê de Leprologistas da Organização Mundial de Saúde)

(Com 4 estampas em negro)

Bacilo de Hansen — O meu pranteado Mestre Adolfo Lutz, trabalhando na Clínica Dermatológica do Prof. P. G. Unna, em Hamburgo, publicou em 1886 um artigo sôbre a morfologia do bacilo de Hansen examinado em suspensão aquosa de leproma, cuja estampa mostra bacilos com um, dois e até 5 e 6 granulações (cocótrices); bacilos em massa globóide e grânulos livres com pedículos. Em 1923 A. Paldrock (Rapport III Conf. Internationale de la lèpre, p. 138) completou êsse estudo em material obtido pelo método de Hack (Derm. Centralb., VI Jahrg. Heft 4), que é idêntico ao de Lutz, corado, descrevendo (V. Estampa 1) bacilos com grânulos presos à membrana; outros com brotos (bourgeonnements), com um grânulo terminal; grânulos livres e com cauda simulando notas musicais; brótos em forquilha, e, por fim, formas ramificadas raras, semelhantes às descritas no bacilo de Koch.

Concluiu Paldrock que: *"Ces granulations representent les éléments de reproduction du microbe de la lèpre."* Pela microscopia de contraste de fases verificamos, no bacilo vivo, tôdas as formas descritas no bacilo morto e corado, por Paldrock, e mais que êsse germe tem membrana, tem halo e é móvel.

Microscopia electrônica — O microscópio electrônico trouxe considerável progresso à morfologia do bacilo de Hansen. Para êste exame o material é fixado pelo calor e sofre intenso bombardeio electrônico que produz a condensação das granulações metacromáticas do bacilo em barras e bolas negras como se fôssem coradas, que se dispõem sobre-

* Trabalho apresentado ao VI Congresso Internacional de Leprologia, Madrid, 3 a 10-X-1953 e publicado na "Memória" do mesmo Congresso, pp. 843/47. Entregue para republicação a 30-5-55.

tudo nas extremidades dos bacilos. Essa nova técnica microscópica veio provar que o bacilo de Hansen tem membrana, e um halo que é mais visível quando envolve as globias ou feixes bacilares. Mostra, também, grânulos livres de vários tamanhos, antes considerados como impurezas dos corantes; grânulos externos presos à membrana e às vêzes ramificações do bacilo.

Na Estampa 2 vêem-se 16 electronomicrografias de 3.500 diâmetros, ampliados para 5.500 x e 7.500 x feitas no Instituto Oswaldo Cruz pelos Drs. Hans Muth e Penna Franca, com a minha colaboração. Em suspensão aquosa de leproma do doente Cícero (figs. 1 a 9) vemos um feixe de bacilos (fig. 1); um bacilo homogêneo com nítida membrana (fig. 2); as figuras 3 a 5 mostram condensações metacromáticas irregulares, cercadas por espaços claros, delimitados por nítida membrana. A figura 6 mostra um grânulo livre. As figuras 7 a 9 mostram bacilos cercados por um halo (gloea de Lutz?). As figuras 10 a 12 representam bacilos de emulsão fresca de leproma do doente Jacyr: a 10 com duas condensações em barra, polares; a 11 com três condensações pouco nítidas (bacilo jovem?) e a 12 com um grânulo de cada lado, presos à membrana bacilar, simulando gemulação. As figuras 13 a 16 mostram, na linfa subcutânea da doente Layse, o bacilo de Hansen sob várias formas, inclusive um feixe (fig. 13) e uma globia (fig. 16) nìtidamente envoltos por um halo claro. Tôda essa morfologia é artificial porquanto o material é fixado e degradado pelo bombardeio electrônico.

Microscopia de contraste de fases — Com a colaboração dos biofísicos Professôres Hans Muth e J. C. Cardoso iniciei, no Instituto Oswaldo Cruz, o estudo morfológico dos bacilos *vivos,* da lepra humana e da lepra murina comparativamente com os de várias culturas de micobactérias, pela microscopia de contraste de fases, com resultados muito instrutivos. Em suspensões aquosas de lepromas, filtradas em gaze para eliminar os detritos tissulares, de vários doentes, assim como em linfa subcutânea de lesões lepromatosas, verificamos muitos grânulos livres, de vários tamanhos, com intenso movimento rotatório; bacilos granulosos com movimentos próprios em parafuso, em rabanada ou em cambalhotas, com lenta progressão em sentido contrário ao da corrente do líquido ambiente (água destilada esterilizada); elementos bacilares cabeçudos, com cauda, semelhantes a girinos, com lento mas bem visível movimento próprio. Todos êsses elementos apresentando nítida auréola.

Os bacilos das emulsões de leproma apresentam movimentos mais lerdos que os da linfa subcutânea, talvez pelo seu hábito de vida enclausurada entre tecido compacto. O movimento dos germes varia de intensidade segundo a temperatura da preparação e vai desaparecendo à medida que o líquido vai secando. Por um exame demorado se verifica que os grânulos se locomovem dentro dos bacilos, contribuindo para a sua progressão. Assim o bacilo se adelgaça na cauda e engrossa na cabeça, no sentido em que se movimenta. Tem-se a impressão que o citoplasma é líquido.

Um exame ainda mais demorado e atento mostra bacilos cujo maior grânulo forma um prolapso e sai do corpo bacilar, partindo em intenso movimento rotatório. Há bacilos com granulação ou bifurcação. Também se vêem grânulos com pedículos, em forma de cometas. A adição de formol no material faz cessar todos êsses movimentos.

Bacilo de Stefansky — Êste bacilo, proveniente de esfregaços de lepromas e órgãos de ratos e de camundongos experimentalmente infectados, é pleomórfico, fortemente ácido-álcool resistente e Gram positivo. Os bacilos adultos são todos granulosos, do tamanho do de Hansen, porém mais delgados e de extremidades irregulares. Em esfregaços corados pelo método de Fontes se distinguem do bacilo de Hansen pelas suas finas granulações, regulares, de côr roxo-azulada. São freqüentes, tanto em esfregaços como em cortes do baço e dos testículos dos murídeos, corados pelo método de Ziehl-Neelsen, as massas bacilares de forma irregular e as belíssimas globias gigantes.

Microscopia electrônica — Por êste método de exame foram Bishop, Suhrland e Carpenter (Memória del V Congreso Internacional de la Lepra, p. 488) os primeiros a demonstrar a estreita semelhança entre o bacilo de Hansen e o bacilo de Stefansky (the morphology of the human and murine strains of *Mycobacterium leprae* closely resembled each other).

Examinando, repetidas vêzes, ao microscópio electrônico RCA do Instituto Oswaldo Cruz, suspensões aquosas frescas de lepromas de murídeos confirmei, graças à colaboração dos biofísicos Drs. H. Muth e Penna Franca, essa estreita semelhança morfológica entre os agentes etiológicos das duas lepras. Fizemos igual exame em material da lepra bubalorum, gentilmente enviado de Java pelo Dr. Boenjamin, sem chegarmos a uma conclusão por se tratar de lepromas fixados e antigos.

As 15 figuras da Estampa 3 representam electronomicrografias do diâmetro de 3.500 x e ampliações para 5.500 x e 7.500 x. As figuras 1 e 2 mostram o bacilo de Stefansky sombreado com crômo, sôbre um ângulo de 25º. A figura 3 mostra condensações cromáticas em barra e ramificações. As figuras 4, 6, 7, 8 e 9 mostram bacilos com condensações idênticas às do bacilo de Hansen. As figuras 5, e de 10 a 15, mostram elementos cercados por um halo claro. Nas figuras 10, 11 e 14 há elementos mais curtos e homogêneos (*trapus*), com halos, que me parecem ser o bacilo associado ao de Stefansky da amostra do Instituto Pasteur de Paris. As figuras 1 e 2 da Estampa 4 são electronomicrografias feitas no Hospital Naval de Buenos Aires pelo Prof. M. G. Malfatti, de emulsão fresca de leproma de rato que lhe levei do Rio de Janeiro, mostrando bacilos ampliados dos 3.700 diâmetros (medida normalmente adotada por aquêle professor), com condensações de cromatina em barras polares e grânulos livres.

As figuras 3 e 4, electronomicrografias ampliadas para 38.500 x e 12.000 x, feitas no Instituto Oswaldo Cruz pelo Dr. Penna Franca, mostram, respectivamente, um feixe de bacilos negros cercado por um halo claro contendo, aqui e ali, minúsculas granulações livres, de cromatina.

As formas dos bacilos da figura 4 são muito interessantes pelas suas condensações homogêneas, polares, bacilos êsses sempre envoltos por halos claros, delimitados por nítidas membranas.

Vê-se, pelas formas acima descritas, que o bacilo de Stefansky sofre considerável alteração na sua estrutura pelo bombardeio electrônico.

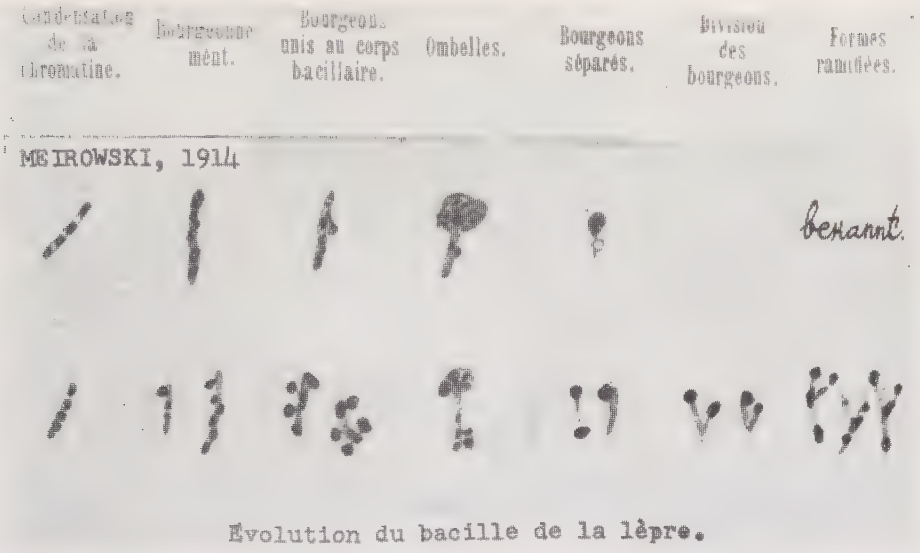
Microscopia de contraste de fases — Suspensão aquosa de leproma de rato, examinada por êste método a 400 x mostrou abundantes bacilos com um grânulo central, dois nas extremidades, ou três ou mais grânulos, formando cocótrices, com movimentos idênticos aos descritos no bacilo de Hansen. As globias parecem imóveis, porém os bacilos livres que as circundam têm movimento intenso. O exame dêsse material a 1 000 x não oferece vantagem para o estudo. Nas emulsões de gânglios axilares de ratos leprosos os bacilos aparecem em menor número e as granulações são mais abundantes, sempre com intenso movimento rotatório.

A suspensão de leproma tratada por soluto forte de formol e examinada nas mesmas condições da suspensão fresca, mostrou bacilos parados, sem sequer o movimento browniano e em condições muito favoráveis para o estudo da sua morfologia estática.

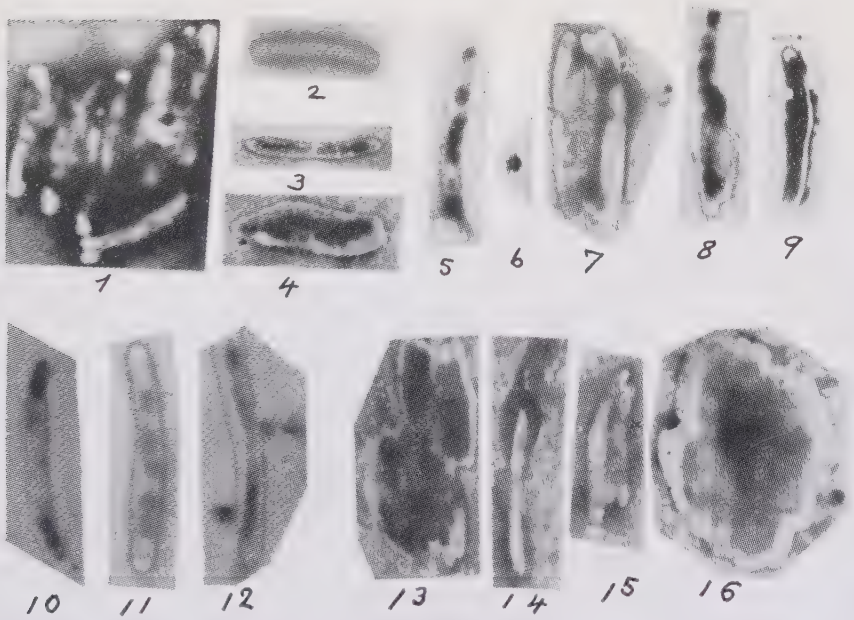
CONCLUSÃO

As microscopias electrônica e de contraste de fases, feitas concomitantemente em materiais de várias lesões da lepra humana e da lepra murina, poderão esclarecer muitos dos aspectos obscuros da biologia e da morfologia dos seus respectivos bacilos.

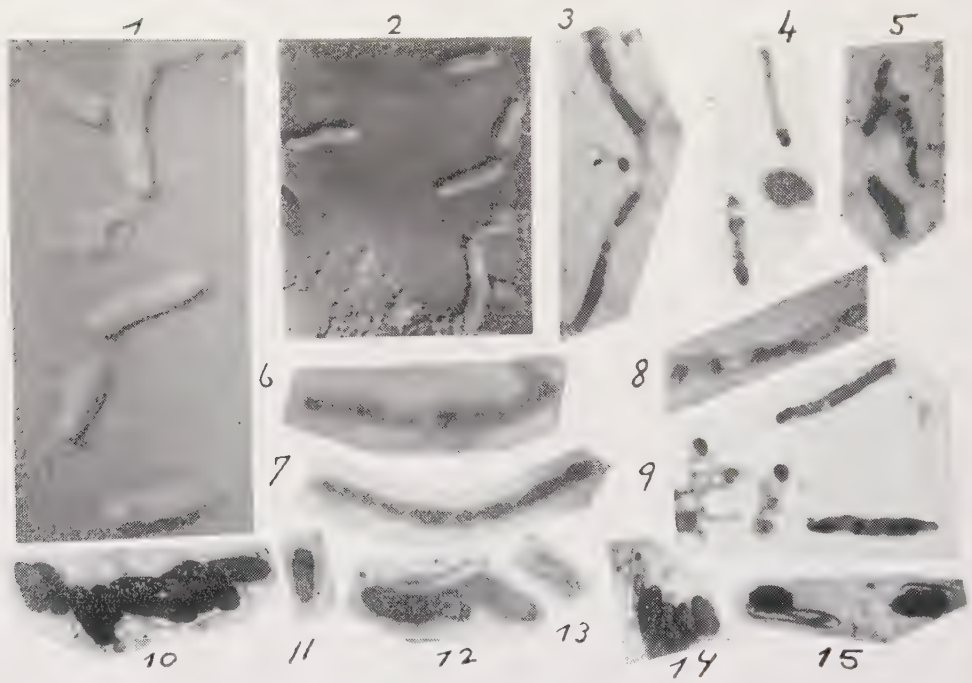
Escrito em Paris, a 28 de setembro de 1953.



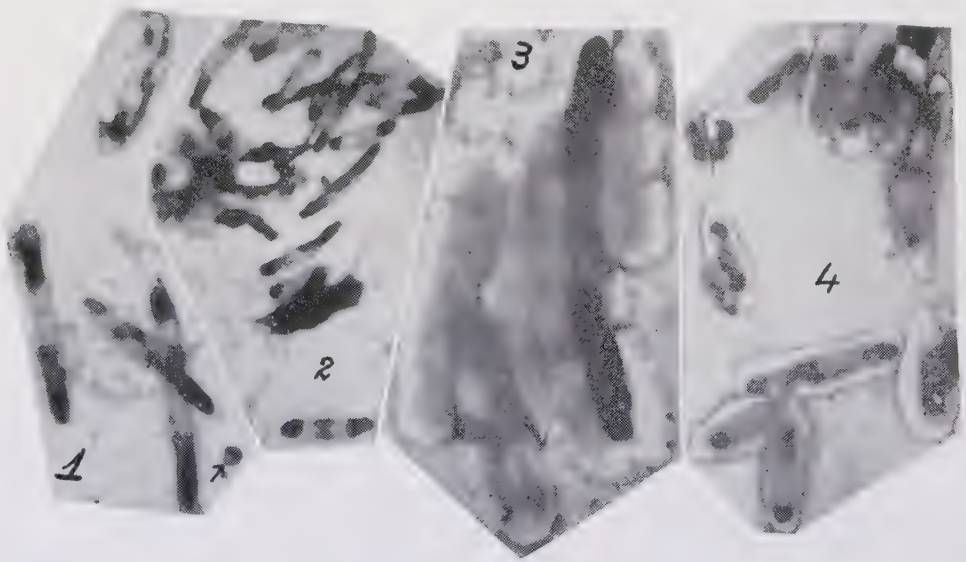
Estampa 1 — *Bacilo de Hansen.* Fig. 26 do Rapport da III Conférence Internationale de la Lépre, 1923.



Estampa 2 — *Bacilo de Hansen.* Electrônomicrografias de H. Muth e P. Franca. Ampliações de 5.500 a 7.500.



Estampa 3 — *Bacilo de Stefansky.* Electrônomicrografias de suspensão de leproma de rato. Ampliações de 3.500, 5.500 e 7.500.



Estampa 4 — *Bacilo de Stefansky.* Electrônomicrografias de suspensão de lepromas de rato. Figs. 1 e 2, ampliações de 3.700 diâmetros, do Prof. M. G. Malfatti, de Buenos Aires, mostrando bacilos de vários tamanhos, com condensações polares das granulações metacromáticas e grânulos livres. Fig. 3, massa de bacilos (38.500 x) com halo (gloea) e Fig. 4, bacilos (12.000 x) com condensações homogêneas e polares, envoltos por halos claros (Dr. P. Franca).

ABSTRACT

Morphology of Mycobacterium leprae hominis and M. leprae muris based on electron and phases contrast microscopy

by

H. C. de Souza-Araujo, M. D., Dr. P. H.

Hansen's Bacillus: By electron microscopy this bacillus shows membrane and halo, this being more visible when surrounding the globi or bundles of bacilli; shows, also, free granules of various sizes which were before considered as dust of the dyes; shows external granules bound with the membrane and sometimes branching.

By phases contrast microscopy examining leproma suspensions and subcutaneous lymph at 400 x we saw many free granules with intense rotatory movement; granulated bacilli with screw, skip or stroke motion, producing slow progressive motion. All such elements are surrounded by a halo, corresponding to the classical gloea. By a patient and delayed examination we were able to see that the internal granules are motile and help the progression of the bacilli, giving the impression that the cytoplasm is liquid. By a lasting observation we could see the larger granules form prolapse, like a pseudopode and abandon the bacilli and going in very rapid rotatory movement. There are branched bacilli; there are pedunculated fred granules like comets. The addition of a drop of formol at the preparation stops all movements.

Stefansky's Bacillus: Repeated examination by RCA electron microscope, type EMU-25 of fresh suspensions of rat lepromas, led us to confirm the close relationship between human and murine leprosy agents. We examined also material from carabo (*Lepra bubalorum*) from Java, but due to fixation, the material was unsuitable for comparative studies. The Stefansky's bacilli showed also membranes and halos, internal or external granules (smaller than those of Hansen's bacillus). The bacilli shaded by chromium look thicker and shorter than those of Hansen. Due to electron bombardment both, Hansen's and Stefansky's baccilli suffer considerable alterations in their structure, showing black bars of chromatin condensation at their extremities as also in their centers. By phase microscopy the

Stefansky's bacilli showed elements with 1, 2 (bipolar), 3 or more internal small granules, developing identical movements as those of Hansen. The globi seem to be non-motile but the free bacilli appearing around the globi show intense movement. At 1000 x the examination is less satisfactory than at 400 x. The addition of formol solution in the preparation suppresses all movements, even the brownian, but the material becomes more suitable for the study of static morphology of the bacilli.

CONCLUSION — The electron and phases contrast microscopy of leprous material from different types and phases of the disease may explain some of the unknown aspects of the biology and morphology of the bacilli.

Atividade moluscócida do ricinoleato de cobre

por

N. Botafogo Gonçalves e **Rostan de Rohan Loureiro Soares**

Calcula-se em cêrca de 150 milhões de indivíduos atacados de esquistossomose, no mundo, e para combater êsse flagelo dispomos de meios ainda muito precários. Uma enfermidade que apresenta tão alarmante índice de infecção, constitui ameaça permanente à saúde pública, exigindo medidas de profilaxia, ressaltando entre estas, o combate extensivo aos moluscos disseminadores da moléstia, por meio de substâncias químicas de custo pouco elevado e que possuam ação moluscócida imediata e retardada, combinadas, permitindo um tratamento econômico de grandes áreas infestadas pelos caramujos.

Algumas substâncias químicas contendo cobre em sua molécula, possuem um coeficiente elevado de letalidade para os moluscos e algumas delas, como o sulfato de cobre e o verde Paris, têm sido recomendadas por alguns autores. Êsses compostos de cobre até agora usados na profilaxia, ou apresentam um alto grau de solubilidade nágua, como o sulfato de cobre, ou são pràticamente insolúveis, como o verde Paris. Os compostos de grande solubilidade, possuem ação letal predominantemente imediata em contato com o molusco, sendo necessário empregá-los em concentração elevada, a fim de contrabalançar a diluição que sofrem, mais ou menos acelerada, conforme a movimentação das águas. No caso do sulfato de cobre, é possível que uma pequena parte seja lentamente transformada em compostos menos solúveis, como sejam o carbonato e o hidróxido de cobre, pela ação da lama existente no fundo das coleções dágua. Os compostos insolúveis também são venenos de contato, que depositando no lodo, atingem os moluscos que passam próximo. Para tratar uma área apreciável de pântano, com êsses compostos insolúveis, que se apresentam em pó muito fino, será necessário grande quantidade de material.

Investigando diversos compostos orgânicos de cobre, especialmente os sais dos ácidos graxos, encontramos o ricinoleato de cobre que apresenta propriedades muito recomendáveis para ser empregado como moluscocida. De custo reduzido, preparo fácil, contendo uma oxidrila na molécula, o que favorece a formação de emulsão estável com a água, especialmente quando muito diluída, apresenta o ricinoleato de cobre

elevada ação moluscócida em diluições acima de 1:10 milhões, o que é muito interessante para seu emprêgo em larga escala, nos trabalhos de profilaxia da esquistossomose.

Dosagem do teor dos sais de cobre, referida a CuO.

Evidentemente, a ação moluscocida do ricinoleato de cobre corre por conta do metal, servindo o ácido graxo de suporte emulsificador. Dêste modo, a fim de se poder comparar a atividade dêste composto e de outros compostos orgânicos de cobre, com a ação do sulfato de cobre, adotamos a prática de referir o teor das soluções e emulsões, ao óxido cúprico (CuO) obtido das mesmas O processo empregado para tal fim, no caso presente, consiste em medir meio a um mililitro da solução, num cadinho de porcelana, prèviamente tarado, evaporar o solvente em banho maria e aquecer o cadinho à incandescência, sôbre bico de Bunsen, pesando-se o resíduo de CuO, depois de esfriar.

Método de preparação de ricinoleato de cobre

I — Preparo do ricinoleato de sódio ou de potássio:

Fórmula:

Óleo de rícino F. B.	1.000 gr
Hidróxido de potássio	200 gr
(ou hidróxido de sódio 150 gr.)	
Água filtrada	2.000 ml

Dissolver o hidróxido na água e, com o líquido ainda quente, sob agitação, deixar cair lentamente, em fio fino, o óleo de rícino. Aquecer em banho maria, até que uma pequena prova, tomada da mistura, se dissolva completamente nágua. Deixar repousar 24 horas.

II — Dissolver o sabão formado, em 5 litros de água filtrada e adicionar lentamente, agitando-se bem, uma solução de

Água filtrada	2.000 ml
Sulfato de cobre ($CuSO_4 + 5\,H_2O$) ..	400 gr

Deixar depositar completamente o sabão de cobre insolúvel nágua. Decantar a água sobrenadante e tratar a massa esverdeada, pegajosa, formada pelos sabões ricinoleato, estearato e palmitato de cobre, por álcool 42º Bè, a quente, em pequenas porções, sucessivamente até que o álcool sáia incolor. Sòmente o ricinoleato de cobre se dissolve no álcool, separando-se assim dos outros sabões de ácido graxo saturado. O ricinoleato de cobre pode ser conservado, até o momento de ser usado, ou sob a forma de massa pegajosa ou em solução no álcool a 42º Bè.

Preparo da emulsão

A emulsão pode ser feita adicionando-se lentamente e sob forte agitação, uma solução alcoólica de ricinoleato de cobre, que contenha o equivalente a 1% de óxido cúprico (CuO), dosado pelo processo acima descrito, a um volume dágua necessário para se obter uma emulsão final na diluição de 1:5.000. A emulsão no título de 1:5.000 parece ser a mais conveniente para ser usada nos aparelhos aspergidores sob pressão, de preferência mergulhando-se a haste longa do aparelho, na água em tratamento. Quanto mais diluída, maior estabilidade apresenta a emulsão.

PARTE EXPERIMENTAL

I — *Experiências realizadas no Laboratório.*

Com a finalidade de obter dados comparativos entre a ação moluscocida do ricinoleato de cobre em confronto com a ação de outros agentes correntemente usados, como o sulfato de cobre e o pentaclorofenolato de sódio, foram realizadas numerosas experiências, no laboratório, empregando-se para tal fim, cubas esmaltadas de 16 x 16 cm, cada uma com a mesma quantidade de areia lavada formando o fundo e mais o líquido da solução ou da emulsão, de modo que cada cuba contivesse 500 ml de líquido, sôbre o qual flutuavam ramos de trepoeraba. As diluições empregadas foram as seguintes, para cada substância ensaiada: 1:400 mil, 1:500 mil, 1:1 milhão, 1:1,5 milhão, 1:2 milhões, 1:10 milhões, 1:20 milhões, 1:50 milhões, sendo as experiências sempre acompanhadas de cubas testemunhas, contendo sòmente água da torneira, que serviu para o preparo das diluições. Os títulos das diluições, para os sais de cobre se referem a CuO, como foi acima mencionado. Os caramujos em número de 20, colocados em cada cuba, eram de vida livre, apanhados num brejo nas proximidades do laboratório, com um a dois dias de antecedência, pertencentes à espécie *A. glabratus*. Foi inicialmente constatado que se pode distinguir nos moluscocidas, duas ações, uma imediata ou de contato e outra retardada.

Devemos assinalar que os dados fornecidos pelas experiências, que realizamos nas condições acima descritas, foram extremamente variáveis, havendo contudo uma certa uniformidade de resultados, nas experiências repetidas em épocas muito próximas. Essas variações podem ser atribuídas a diversas causas, como sejam, a maior ou menor resistência dos animais, devido às fases de atividade biológica e oscilações da temperatura ambiente, nas diferentes épocas do ano. Essas variações foram sobremodo acentuadas nas experiências realizadas com ricinoleato de cobre, fato explicável, porquanto, tratando-se de uma emulsão muito fina, com tendência a formar película aderente à vegetação, a atividade letal cresce quando as necessidades do caramujo, em fase de recuperação do ciclo hibernal, obrigam-no a um maior consumo de alimento.

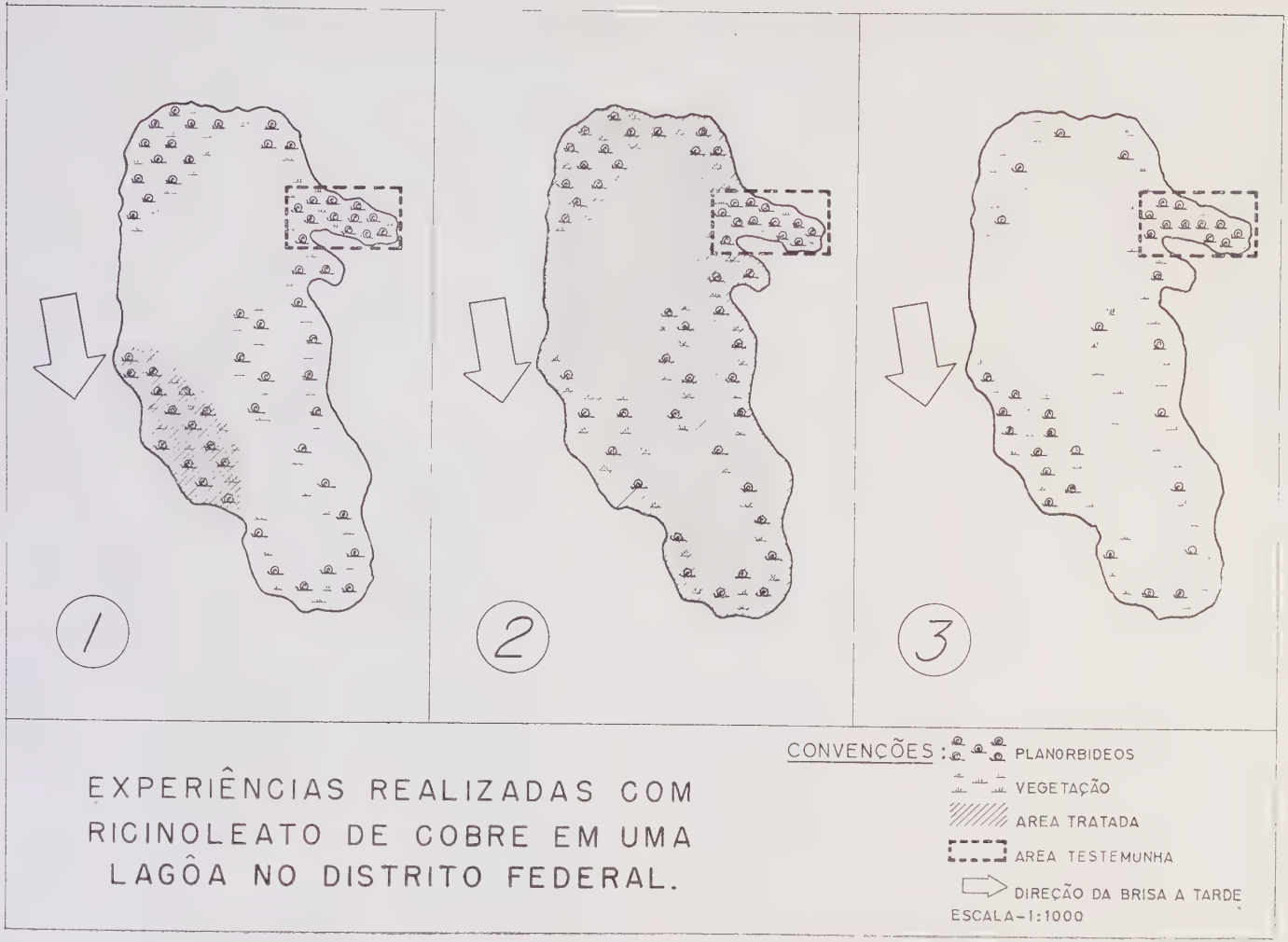
Dessas experiências podemos concluir, que tanto o ricinoleato de cobre, como o sulfato de cobre, possuem acentuada *ação moluscocida precoce,* constante e mais ou menos equivalente, que já se manifesta nas diluições de 1:500 mil, ao primeiro contato, produzindo completo retraimento de todos os moluscos que se encontravam na cuba, sendo que na diluição de 1:1,5 milhão ainda foi observada em 50% dos animais. Nessas condições a ação precoce do pentaclorofenol ou de seu sal sódico, é nula. A *ação letal retardada* do ricinoleato de cobre é superior à do sulfato de cobre, pentaclorofenol ou de seu sal sódico.

Após 24 horas de ação, nas experiências mais favoráveis, realizadas no mês de março, de temperatura elevada, o ricinoleato de cobre ainda se mostrava ativo matando 65% de moluscos, na diluição de 1:20 milhões, ao passo que o sulfato de cobre, na diluição de 1:10 milhões, matava 45% e o pentaclorofenol apenas 5%. Êsses valores percentuais são apenas relativos, pois que variam muito com a época do ano em que são realizadas as experiências, como demonstra a relação obtida em experiências realizadas em junho, época em que a temperatura atinge o grau mais baixo do Rio de Janeiro, tendo-se obtido os seguintes valores para a atividade exercida pelo contato durante 24 horas, na diluição de 1:1 milhão: ricinoleato de cobre, ocasionou a morte de 75% de caramujos existentes na cuba, sulfato de cobre em 60% e pentaclorofenolato de sódio em 50%.

II — *Experiências de campo com o ricinolato de cobre.*

Escolhemos para essas experiências uma pequena lagoa, situada em Marechal Hermes, subúrbio do Distrito Federal. Êsse foco formava um "barreiro" distante uns 50 metros da margem da estrada de rodagem e apresentava-se como uma escavação artificial de dimensões aproximadas em metros, 30 x 70 e 1,5 de profundidade máxima, possìvelmente resultante das obras de atêrro e terraplanagem da via pública. A vegetação mais condensada nas margens, formava algumas coroas mais para o centro, sendo representada por trepoeraba, capim comum e outras gramíneas verticais não identificadas, esparsas e pouco abundantes. O lençol dágua, após as 14 horas, sofre a agitação de leve brisa que sopra encrespando as águas e levando a população de caramujos, em flutuação na superfície, para uma das extremidades da escavação, em direção à estrada de rodagem. Aí, lugar mais limpo e de maior profundidade, a criançada toma banho. Próximo a êste foco está sendo feito o atêrro do campo, com lixo e tôda sorte de dejetos, fussados por suínos. Mais além mora uma população nordestina, recentemente aclimatada, empregada na indústria local.

Iniciamos as experiências no dia 5 de julho de 1954 e após rápido reconhecimento da densidade de planorbídeos (*A. tenagophilus*), percorrendo o contôrno marginal, realizamos às 15 horas a primeira aplicação do ricinoleato de cobre, em solução alcoólica a 3% (calculado em CuO), empregando-se de início, uma bomba Flit para a aspersão do



EXPERIÊNCIAS REALIZADAS COM RICINOLEATO DE COBRE EM UMA LAGÔA NO DISTRITO FEDERAL.

líquido. Porém, como essa bomba não se prestasse convenientemente para tal fim, fizemos a aplicação do moluscocida diretamente nágua, agitando-a. Uma hora depois da aplicação, foi feita a *leitura*, cujos resultados foram os seguintes:

Planorbídeos *mortos:* 190
vivos: 78 mortalidade 70,8% (mapa fig. 1)

Em 12 de julho de 1954 realizamos a segunda aplicação do ricinoleato de cobre, já agora com equipamento melhor, levando uma bomba de aspersão, podendo trabalhar com a pressão de 40 libras, utilizada pelo Serviço Nacional de Malária para aplicação de DDT. Usamos para preparar a emulsão, uma solução, alcoólica a 1,25% (dosada em CuO) de ricinoleato de cobre, sendo utilizados seis litros dêsse líquido nessa ocasião.

Com essa solução preparamos uma emulsão do teor aproximado de 1:5.000, juntando a solução alcoólica, lentamente, numa lata com água e mantendo o líquido fortemente agitado. Essa emulsão foi transferida para o aparelho de aspersão, com o qual se realizou a aplicação na água da lagoa (mapa fig. 2) primeiramente com o bico da bomba acima do lençol dágua, mas logo em seguida foi dada preferência para a aplicação com o bico submerso na água, formando-se assim uma emulsão estável. Dêsse modo foi feita a aplicação do ricinoleato, percorrendo-se tôda a margem da lagoa, na direção da esquerda para a direita, deixando-se entretanto um pequeno recanto, assinalado no mapa, formado por estreita enseada, na qual abundavam os planorbídeos, área essa que serviu de testemunha da experiência. Além dessa área, pequenas coroas de capim, situadas em zonas mais afastadas das margens, em lugar lamacento e de maior profundidade, não puderam ser atingidas pela bomba. Às 15.30 estava terminada a aplicação, começando a soprar a brisa da tarde. Uma hora após, foi feita a *leitura* da mortalidade dos planorbídeos, com o seguinte resultado:

1) Área tratada

Planorbídeos mortos: 400
vivos: 20
mortalidade: 95,2%

2) Área testemunha: Todos os planorbídeos vivos.

Vinte e quatro horas após, voltamos a contar os planorbídeos da lagoa, obtendo o seguinte resultado:

Planorbídeos mortos: 72
vivos: 200

Na área testemunha, todos os planorbídeos vivos.

É preciso notar que a maior parte dos moluscos mortos, não só os referidos na contagem do dia anterior, como os que foram morrendo nas horas subseqüentes, naturalmente submergiram na lama e nas águas mais profundas, não podendo ser contados senão os que se achavam nas margens.

Os restantes, ainda vivos 24 horas após a aplicação, evidentemente emigraram das áreas centrais mais afastadas, onde não foi possível levar a aspersão da emulsão de ricinoleato de cobre.

A localização dos caramujos num ponto raso, marginal e sem correnteza, que reservamos como área testemunha, e daqueles que foram levados pela ação da brisa da tarde sôbre as águas, acha-se figurada claramente no mapa anexo, permitindo que se tenha uma idéia do resultado alcançado.

CONCLUSÕES

1 — Em experiências preliminares, realizadas no laboratório e numa pequena lagoa infestada de caramujos *A. tenagophilus,* constatou-se acentuada atividade moluscocida do ricinoleato de cobre, formando emulsões estáveis, na água, em grandes diluições.

2 — A ação moluscocida dêsse sal de cobre é muito mais acentuada do que a do sulfato de cobre, possuindo como êste, *ação imediata e retardada,* e também muito mais ativa do que a do pentaclorofenol e seu sal sódico, que só possuem ação retardada.

3 — Pela facilidade de sua preparação, pelo custo pouco elevado, pelo fato de ser insolúvel nágua, formando porém emulsão de partículas finíssimas, com tendência a se depositar, em tênue camada, sôbre os vegetais, agindo não sòmente em estado de emulsão, como também depois de depositado, recomenda-se o emprêgo do ricinoleato de cobre como moluscocida de elevada atividade.

Trabalho realizado no Instituto Oswaldo Cruz em coiaboração com o Serviço Nacional de Malária (Secção do Prof. Júlio Muniz).

Entregue para publicação em 4.7.55.

Molluscocide action of the cupric ricinoleate

by

N. Botafogo Gonçalves and **Rostan de Rohan Loureiro Soares**

It is estimated that there are 150 million people in the world suffering from schistosomosis and the means at our command for fighting this disease are still very inadequate. An illness with such an alarming infection rate constitutes itself in a constant menace to public health; prophylactic measures are, therefore, required, especially through action against the molluscs responsible for the dissemination of the disease. This can be done by using low-cost chemical substances with immediate or delayed results, permitting an economic treatment of large snail infected areas.

A number of chemical substances containing copper in their molecule offer a high mollusc mortality coefficient; some of them, as the cupric sulphate and Schweinfurth green, were recommended by the authors. These copper compounds up to now used in the prophylaxy are either highly soluble in water, as the cupric sulphate, or they remain practically insoluble in water, as is the case of Schweinfurth green. When in contact with molluscs, highly soluble compounds develop a prevailingly instantaneous mortality action; they must, therefore, be used in heavy concentrations, to counterbalance the more or less accelerated dilution to which they are subjected, depending upon the water movements. When using cupric sulphate, small portions of same are slowly transformed into less soluble compounds, as cupric carbonate or hydroxide, by the action exerted by the mud to be found at the bottom of water collections. Insoluble compounds are also poisonous to the touch; they form a deposit on the mud and kill molluscs that approach them. Insoluble compounds come in form of a very fine powder and large quantities of the material are necessary to treat fair-sized swamp areas.

On examining several organic copper compounds, especially the salts of fatty acids, we have come upon the cupric ricinoleate, whose properties result in making it very adequate as a molluscocide. The cupric ricinoleate, cheap and easily prepared, containing in its molecule an oxidril that favours the formation of stable emulsions with the water especially in great dilutions, develops a wide molluscocide action

in dilutions above the 1:10 million proportion, a factor of the utmost importance regarding its usage on a large scale in the prophylaxy of schistosomosis.

Teneur of cupric salts, point of reference CuO

It is quite clear that the molluscocide action of the cupric ricinoleate is due to the metal, while the fatty acid acts as an emulsification support. So as to be able to compare the activity of this and other organic copper compounds with relation to that of the cupric sulphate, we decided on the practice of using the copper oxide (CuO) as a reference point for the solution and compound teneurs. For this purpose, the process consists in measuring into a previously tared china crucible 0.5-1 ml of the solution, cause the solvent to be evaporated by means of a bain-Marie and whiteheat the crucible over a Bunsen burner, weighing the CuO residue after having allowed to cool.

Preparation method for the cupric ricinoleate

I — Preparation of the sodium ricinoleate:

Formula:

Ricinus oil F. B.	1.000 gr
Potassium hydroxide	200 gr
(or 150 gr sodium hydroxide)	
Filtered water	2.000 ml

Dissolve the sodium hydroxide in water and, while the liquid is still warm, allow the ricinus oil to be stirred in slowly. Place in bain-Marie until it is possible to entirely dissolve in water a small sample taken from the mixture. Allow a 24 hours' rest.

II — Dissolve the soap obtained by the above process in 5 liters filtered water and slowly stir in a solution containing:

Cupric sulphate ($CuSO_4 + 5\,H_2O$)	400 gr
Filtered water	2.000 ml

Let the copper soap not soluble in the water deposit. Pour out the water and submit the viscous greenish mass formed by the ricinoleate, palmitate and stearates copper soaps, to successive washings in 42ºBè heated alcohol, in small quantities, until the alcohol comes out colorless. The copper ricinoleate only may be dissolved in alcohol, this way separating from the other saturated fatty acid soaps. Copper ricinoleate can be preserved until the time when it is to be used either as a viscous mass or in a 24º Baumé solution.

Preparation of the emulsion

The emulsion may be obtained by slowly adding, under constant agitation, a cupric ricinoleate alcoholic solution with a 1% cupric oxid (CuO) equivalent, dosed in accordance with the above-described method, to a water volume required for a final emulsion at a 1:5.000 dilution. This 1:5.000 emulsion seems to be the most convenient for pressure sprinklers, while the long arm of the apparatus should, whenever possible, be sunk into the water that is being treated. The more it is diluted, the greater becomes the stability offered by the emulsion.

EXPERIMENTAL PART

I — *Laboratory tests*

To obtain comparative data between molluscocide action as exerted by the cupric ricinoleate against that of other commonly used agents, as the cupric sulphate and the sodium pentachlorophenolate, a series of experiments were effected in the laboratory, using 16 x 16 gawns, each of which had its bottom covered by a certain equal amount of washed sand and solution or emulsion liquid, each gawn containing 500 ml liquid, over which there floated trepoeraba branches. The dilutions used for each tested substance were the following: 1:400 thousand, 1:500 thousand, 1:1 million, 1:1.5 million, 1:2 million, 1:10 million, 1:20 million, 1:50 million; tests were always made with other gawns used as witnesses, which contained only common tap-water used in the preparation of the dilutions. The copper salt dilution teneurs, as mentioned above, refer to CuO. The 20 snails which were placed in each gawn were not laboratory-bred, but had been caught in a marsh existing in the vicinities of the laboratory, 1-2 days before the tests, and were of the *A. glabratus* species. It was established, initially, that two different actions may be distinguished among the molluscocides, one immediate, the other delayed.

Attention must be called to the fact that the results obtained in the tests carried out under he above-described conditions showed much variation, a certain uniformity of results, however, being noticed for tests repeated at short intervals. These variations can be explained by several reasons, as the more or less pronounced resistance of the snails, due to biologic phases, and oscillation of temperature in the different periods of the year. These variations were especially noticeable in tests with cupric ricinoleate, and the explanation for this is that this is a very fine emulsion, which tends towards the formation of a delicate film adhering to the vegetation; in these the mortality action increases for, when the snail returns from its hibernal cycle, it requires larger food consumption.

From these tests one can conclude that both the cupric ricinoleate and the cupric sulphate have a pronounced *precocious molluscocide action,* constant and more or less equivalent, and which is apparent in 1:500 thousand dilutions already, at the very first contact, occasioning retirement of all molluscs in the gawn; 50% of the snails were found

to be sensitive to a 1:1.5 million dilution. Under these circumstances, the precocious action of the pentachlorophenol or that of its sodic salt is unexisting. The *delayed lethal action* of the cupric ricinoleate is superior to that of the cupric sulphate, pentachlorophenol or its sodic salt.

After an action of 24 hours, in the best tests, made in the middle of a hot month, March, copper ricinoleate was still found to be effective, killing 65% of the molluscs in a 1:20 million dilution, against 45% of the cupric sulphate in 1:10 million dilutions, and 5% of the pentachlorophenol. These percentages have a relative value, for they show a large variation range, depending upon the time of the year in which the tests are carried out; as an example for this we may mention the relation obtained in tests effected in June, a period during which the temperature is at its lowest in Rio de Janeiro, the following results being obtained after a 24 hours' contact with a dilution of 1:1 million: the copper ricinoleate caused the death of 75% of the snails in the gawn, cupric sulphate 60%, and sodium pentachlorophenolate 50%.

II — *Field tests with the copper ricinoleate*

For these tests we selected a small pool situated near Marechal Hermes, a suburb of the Federal District. This focus was formed by a clay-pit at a distance of some 50 meters from the high-way, an artificial excavation, which measured, in meters, around 30 x 70, with 1.5 maximum depth, resulting possibly from the landscaping and earth works carried out on the public high-way. Vegetation, which was more abundant at the margins, formed little tufts towards the centre, comprising trepoeraba, common grass, and other not identified vertical gramineae, wide-spaced and scarce. After 2 o'clock p.m. a light breeze stirs up the water surface, impelling the floating snails to one of the recesses of the excavation, towards the direction of the road. This place is cleaner and deeper, and children are in the habit of bathing there. Near the focus earth-works are being made; refuse of all kinds is found there, as well as some pigs. A little farther down lives a recently acclimatized population, original from the North-Eastern States of the country, employed in the local industries.

Our experiments were begun on July 5th 1954; after proceeding to a quick verification of the planorbidei (*A. tenagophilus*) density along the marginal contour, the first copper ricinoleate application was carried out at 3 o'clock p.m., in a 3% alcohol solution (calculated in CuO). Initially, spraying of the liquid was done by means of an inseticide sprayer but, as this apparatus was found be unsuited for the purpose at hand, application of the molluscocide was made directly into the water, with subsequent stirring. An hour later, a *reading* of this result was made as follows:

Dead planorbidii: 190
Living " : 78

Mortality rate: 70.8% (Map on fig. 1).

On July 12th 1954, a second ministration of copper ricinoleate was effected, with a better suited equipment, i.e. an adequate sprinkler working at 40 lb pressure, used by the National Malaria Service in DDT sprinklings. For the solution we used a 1.25% (CuO dosed) copper ricinoleate alcoholic solution, using 6 liters of this solution on this occasion.

With this solution we prepared an approximately 1:5,000 emulsion, slowly pouring the alcoholic solution into a can filled with water, stirring energetically all the time. This emulsion was then transferred into the sprinkler and sprayed on the pool (Map on fig. 2), at first with the apparatus above water level, then sunk into the waters, thus forming a stable emulsion. This way ricinoleate was applied all along the margins, counterclockwise, with the exception of the small recess marked on the map, formed by a small narrow gulf, where an abundance of snails was found, acting as witness to the test. Some small grass tufts off the margins, in a muddy and deeper area, could also not be reached by the sprinkler. The operation was over at 3.30 p.m., and the afternoon breeze began to blow. One hour later a reading was effected, with the following results:

1) Treated area —

Dead planorbidii: 400
Alive " : 20
Mortality rate 95.2%

2) Witness area —

All planorbidii were found alive.

Twenty-four hours later a second reading was effected, as follows:

Dead planorbidii: 72
Alive " : 200

As before, all planorbidii in the witness area continued alive.

It must be noticed that the majority of dead molluscs, not only these found by the first counting, but also those which died in the following hours, naturally have sunk into the mud and into deeper waters, so that only those at the margins could be subject to counting.

The molluscs which were still found alive after 24 hours did evidently migrate from the more distant central areas, where it was not possible to effect the spraying with copper ricinoleate emulsion.

The position of snails in the shallow marginal section separated as a witness area, and which could not be reached by water currents, as well as the position of those others carried by the afternoon breeze, are all clearly shown in the annexed map, giving a distinct idea of the results obtained.

CONCLUSIONS

1 — From preliminary tests effected in the laboratory and in an A. *tenagophilus* infected pool, it was verified that copper ricinoleate, when used in large dilutions and forming stable emulsions with the water, possesses a pronounced molluscocide action.

2 — The molluscocide action as exerted by this copper salt is much stronger than that of the cupric sulphate; like this one, it also develops an *immediate* and a *delayed* action; it is also much more powerful than the pentachlorophenol and its sodic salt, both of which have only a delayed action.

3 — The usage of this copper ricinoleate as a highly-active molluscocide is recommended, due to its easy preparation, low cost, insolubility in water, with a formation of emulsions of very small particles and tendency to form thin layers on vegetation, active not only in the emulsion but also after depositing.

A descoberta da Esquizogonia do Halterídio do Pombo e sua influência na evolução da Protozoologia*

por

W. Lobato Paraense

Por volta de 1906 as concepções sôbre o significado e a evolução dos protozoários hemoparasitos estavam dominadas pelas idéias de Schaudinn, expostas principalmente em seu trabalho dedicado ao estudo das gerações alternantes, publicado em 1904. A incrível capacidade de investigação de Schaudinn, aliada a uma técnica pessoal altamente aperfeiçoada, elevou-o em pouco tempo a um nível de excelsa autoridade científica, muitas vêzes bastando a menção a seus pontos de vista para contradizer noções as mais exatas prèviamente conquistadas por outros pesquisadores.

No que se refere ao gênero *Haemoproteus,* eram a êsse tempo conhecidas numerosas espécies através da forma de halterídio parasita dos glóbulos vermelhos. Uma única espécie, entretanto, tinha o seu ciclo vital considerado como perfeitamente conhecido, graças às investigações de Schaudinn: o *Haemoproteus noctuae,* que havia sido descoberto por Celli e San Felice na pequena coruja das torres das igrejas, *Athene noctua*. Observando o sangue desta coruja, descobriu Schaudinn um flagelado, que denominou *Trypanosoma noctuae*.

Até então os autores consideravam os tripanosomas como sêres distintos dos hemoproteus. Schaudinn, entretanto, julgou ter encontrado formas de transição que lhe deram a certeza de serem o hemoproteu e o tripanosoma da coruja formas alternantes de um mesmo parasito. O hemoproteu em crescimento dentro do glóbulo vermelho foi por êle considerado como forma de repouso, assexuada, que assim permanecia durante o dia. À noite o parasito deixava o glóbulo, tomava a forma de tripanosoma e, livre no plasma, passava a multiplicar-se por fissão longitudinal. Os pequenos tripanosomas resultantes dessa multiplicação penetravam no glóbulo. Aqui uma parte dêles repetia o processo assexuado, e outra parte crescia como formas sexuadas, dando hemoproteus adultos, distinguíveis em micro e macrogametócitos. Dêstes últimos, os

microgametócitos não eram mais capazes de evoluir no vertebrado, só continuando seu desenvolvimento no estômago de um mosquito (*Culex pipiens*), onde produziam microgametos. Quanto aos macrogametócitos, podiam regredir à forma assexuada e multiplicar-se no sangue da ave, ou prosseguir sua evolução no estômago do mosquito, onde se transformavam em macrogametos para serem fecundados pelos microgametos. O zigoto resultante da fecundação produzia tripanosomas muito delgados, que SCHAUDINN distinguia em três tipos: masculinos, femininos e indiferentes. As formas masculinas não eram capazes de multiplicação. As femininas não se multiplicavam como tais, só o fazendo depois de regredirem a formas indiferentes. As indiferentes eram as únicas aptas a multiplicar-se; inoculadas pela picada do mosquito, davam início ao ciclo no organismo da ave.

Logo depois de conhecidos êsses resultados de SCHAUDINN, foram êles plenamente confirmados por EDMOND e ÉTIENNE SERGENT, tornando-se geralmente aceitos. É verdade que NOVY e MC NEAL, aplicando o seu então recente método de cultura em agar-sangue, conseguiram cultivar apenas os tripanosomas e não evidenciaram qualquer indício de multiplicação dos hemoproteus, daí concluindo que as observações de SCHAUDINN haviam sido feitas em aves com infecção mixta. Esta impugnação, entretanto, parece não ter afetado no momento a aceitação dos resultados de SCHAUDINN.

Achava-se a questão nos têrmos referidos quando ARAGÃO começou suas observações sôbre o *Haemoproteus columbae*.

Logo de início, não conseguiu transmitir a infecção pela picada do *Culex fatigans*. Passou à investigação de outro transmissor, detendo-se a observar as línchias que são vistas habitualmente entre as penas dos pombos, de cujo sangue se nutrem. No conteúdo do estômago de línchias alimentadas em pombos infectados encontrou sempre numerosos oocinetos, parecendo-lhe ser esta a fase final do ciclo do protozoário no organismo do inseto. Nesse meio tempo, os irmãos SERGENT demonstraram o papel da línchia na transmissão do *H. columbae*.

Supunha ARAGÃO que, ao picar o pombo, a línchia regurgitaria parte do conteúdo do estômago, inoculando assim os oocinetos na circulação da ave; considerava, portanto, o oocineto como o elemento infectante. Só mais tarde ADIE demonstraria que o ciclo do *H. columbae* na línchia era semelhante ao de um plasmódio no mosquito, terminando com a eliminação de esporozoítos através das glândulas salivares.

As investigações de ARAGÃO destinavam-se inicialmente a verificar a ocorrência, no *H. columbae*, das gerações alternantes descritas por SCHAUDINN. Tendo em vista a decisiva influência da escola protozoológica alemã na sua formação científica, é digno de menção que diante do aparente insucesso de suas primeiras tentativas se dispuzesse a abandonar desde logo a concepção schaudinniana, com a qual se identificava a êsse tempo a concepção dos grandes mestres germânicos, para adotar outras noções, quaisquer que fôssem, conquistadas à custa da própria perquirição de segredos tidos então como já desvendados. Em suas publicações não se preocupa em argumentar contra a transformação do

oocineto em tripanosoma no intestino do mosquito, visto como devia julgar suficiente a prova contida no próprio malôgro da transmissão. Também não se perde em razões contrárias às transmutações entre hemoproteu e tripanosoma no organismo da ave. Segue direto ao encontro do fato simples e real, que consiste na multiplicação esquizogônica do parasito no interior de células dos tecidos pulmonares, antes da invasão dos glóbulos vermelhos.

Não será exagêro dizermos que a descoberta do ciclo esquizogônico do *H. columbae* constituiu uma etapa decisiva no progresso da protozoologia. Além de demonstrar cabalmente a impropriedade da noção das gerações alternantes no sentido enunciado por Schaudinn, contribuiu para o melhor conhecimento do processo evolucionário e da situação sistemática dos hemosporídeos entre os esporozoários.

Costuma-se afirmar que os hemosporídeos derivam das coccídeas intestinais através de uma adaptação ao ambiente sanguíneo. Um passo importante para o mais perfeito ajustamento desta generalização à realidade dos fatos foi dado com a verificação da existência de um ciclo esquizogônico dos plasmódios em células de tecido do hospedador vertebrado. E para facilitar a compreensão da natureza dessa esquizogonia dos plasmódios em células de tecido nenhum conhecimento prévio foi mais decisivo do que o da existência do mesmo ciclo esquizogônico nos hemoproteídeos. Nesta ordem de idéias, foi Aragão o primeiro pesquisador a demonstrar a possibilidade de um protozoário parasito do sangue multiplicar-se por esquizogonia em células de tecidos.

A evolução dos hemosporídeos a partir das coccídeas intestinais revela a existência de algo como uma tendência ortogenética orientando aquela evolução no rumo de uma adaptação progressiva cada vez mais perfeita ao meio interno do hospedador. No gênero *Cryptosporidium* o parasito realiza os ciclos esquizogônico e esporogônico em situação epicelular, aderente ao revestimento epitelial do tubo intestinal do hospedador, em cujas células não penetra. No gênero *Selenococcidium* os dois ciclos iniciam-se na luz intestinal e terminam dentro das células epiteliais do revestimento. Nas numerosas espécies da família Eimeriidae o esporozoíto penetra na célula intestinal logo depois de libertado, aí realizando a totalidade dos ciclos esquizogônico e esporogônico. No gênero *Caryotropha* instala-se a tendência a ultrapassar a barreira do revestimento intestinal, indo o parasito realizar a esquizogonia e a esporogonia nos espermatogônios da cavidade geral e alcançando o meio exterior de mistura com o esperma. O gênero *Aggregata* produz esquizontes nas células conjuntivas do tecido peri-intestinal. Não existindo via natural de escape da região infectada, surge nova adaptação, inaugurando-se a alternância de hospedadores; com a ingestão do primeiro hospedador pelo segundo, o parasito realiza neste último o ciclo esporogônico. Na família Lankesterellidae, o gênero *Schellackia* representa a transição das coccídeas intestinais para os hemosporídeos. O esporozoíto dá esquizogonia no epitélio intestinal, os microgametócitos desenvolvem-se no mesmo epitélio, os macrogametócitos nas células do tecido conjuntivo peri-intestinal, onde são fecundados pelos microgametos. A matu-

ração do oocisto processa-se *in loco*, de modo que após a sua rotura os esporozoítos caem na circulação sanguínea, invadem os glóbulos do sangue, e são daí retirados pelo hospedador invertebrado; êste, sendo ingerido pelo vertebrado, transfere os esporozoítos para o intestino dêste último. No gênero *Lankesterella*, da mesma família, o esporozoíto não mais ingressa pela via digestiva, sendo introduzido diretamente na circulação do vertebrado por intermédio de sanguessugas. Neste gênero é dado um passo decisivo na adaptação do parasito ao meio interno do hospedador, com a concentração da esquizogonia e da esporogonia nas células endoteliais dos capilares sanguíneos; com a rotura do oocisto, os esporozoítos são derramados na circulação e daí retirados pelo invertebrado. Nos hemoproteídeos os esporozoítos entram em células endoteliais e aí dão a esquizogonia, como no caso anterior. Os gametócitos, entretanto, transferem-se para os glóbulos do sangue, ficando assim facilitada a sua passagem ao organismo do inseto transmissor, para onde se transfere a multiplicação esporogônica.

Neste ponto ficamos aptos a compreender a influência decisiva do conhecimento prévio do ciclo esquizogônico do *H. columbae* sôbre os estudos que levaram à demonstração de um ciclo semelhante dos plasmódios nas células de tecido.

Em 1926 dizia Wenyon, à pág. 909 de seu manual de Protozoologia, referindo-se aos membros da família Plasmodiidae: "It may be claimed that their cycles of development are completely known, though certain details of this development and many of the factors which regulate it have yet to be elucidated." Em outro trecho da mesma obra dizia aquêle autor (p. 882), ao comparar os ciclos vitais dos hemoproteídeos e plasmodídeos: "In the Plasmodiidae another advance is made, for the sporozoite injected by the invertebrate, instead of entering the endothelial cells of the vessels to initiate the schizogony cycle, directly invade the red blood-corpuscles themselves, in which the whole schizogony cycle terminating in the production of gametocytes takes place."

Entretanto uma série de fatos, que não é necessário relembrar aqui, vinha indicando a necessidade de uma reinvestigação das primeiras etapas do ciclo dos plasmódios no organismo do vertebrado. Grande número de provas indiretas sugeria a hipótese de trabalho, que se revelou altamente fecunda, de um ciclo esquizogônico comparável ao do hemoproteu na evolução dos plasmódios. Para quem considerasse as etapas sucessivas da evolução da ordem Coccidiida na direção do meio interno pareceria mais natural que o esporozoíto do plasmódio penetrasse em uma célula de tecido, como em tôdas as outras espécies dessa ordem, e não diretamente no glóbulo vermelho. Dêste modo os plasmodídeos poderiam ser encarados como derivados dos hemoproteídeos em consequência da transferência de uma parte do ciclo esquizogônico para o sangue, o que representaria mais um passo no processo de adaptação ao meio interno, rigorosamente de acôrdo com a expectativa de coerência com a linha de evolução seguida pela ordem. A semelhança entre as duas famílias aparecia assim de maneira muito nítida, distinguindo-se uma da

outra apenas pela presença ou ausência de esquizontes nos glóbulos sanguíneos.

As primeiras verificações de formas esquizogônicas exoeritrocitárias nos plasmódios, confirmando o referido ponto de vista teórico, fizeram convergir as idéias de todos os pesquisadores do assunto para os achados de Aragão, que já datavam de cêrca de três décadas. De fato, as formas exoeritrocitárias que estavam sendo descobertas assemelhavam-se notàvelmente aos esquizontes do *H. columbae*. Muitas das investigações subseqüentes têm revelado a existência de outras analogias, além das morfológicas, entre os esquizontes teciduais dos plasmódios e dos hemoproteus, sendo dignas de menção aquelas referentes ao seu comportamento diante dos medicamentos. Outras analogias certamente serão ainda verificadas, podendo ser aproveitadas em estudos comparativos destinados a distinguir, em relação aos plasmódios, os efeitos decorrentes da ação das formas esquizogônicas do sangue e dos tecidos.

The discovery of the schizogony cycle in the pigeon's halteridium and its influence on the advancement of protozoology

by

W. Lobato Paraense

About the year 1906, the concepts on the meaning and evolution of blood protozoa were governed by SCHAUDINN's views, most of which had been expressed in his paper on alternating generations, issued in 1904. The extraordinary investigative abilities of SCHAUDINN, combined with a highly developed personal technique, soon elevated him to an exceedingly authoritative scientific rank, so that in many instances a mere mention of his statements was considered as sufficient to refute some of the most exact notions previously acquired by other workers.

As regards the genus *Haemoproteus,* a great number of species were known at the time, through the form of halteridium occurring in red blood cells. However, the only species the life cycle of which was believed to be completely known, as a result of SCHAUDINN's investigation, was *Haemoproteus noctuae,* previously discovered by CELLI and SAN FELICE in the little owl, *Athene noctua.* A blood flagellate was found in this owl by SCHAUDINN, who named it *Trypanosoma noctuae.*

Up to that time, authors agreed in considering *Trypanosoma* and *Haemoproteus* as separate genera. SCHAUDINN, however, believed he had found transition forms which convinced him that the halteridium and trypanosome of the owl were merely alternating forms of the same parasite. He regarded the growing intracorpuscular halteridium stages as asexual resting forms, remaining as such during the daytime. At night the parasite left the cell and changed to a trypanosome in order to multiply by longitudinal fission in the blood plasma. The small trypanosomes resulting from that multiplication entered other red cells, where some of them repeated the asexual cycle, whereas some others developed as sexual forms into adult halteridia (micro and macrogametocytes). Of the latter, the microgametocytes could no longer continue their evolution in the vertebrate host, further development being continued in the gut of a mosquito (*Culex pipiens*) where the

process of microgamete formation took place. As to the macrogametocytes, they could either revert to the asexual stage and then multiply in the blood of the bird, or pursue their development in the mosquito, becoming macrogametes to be fertilized by the microgametes. The zygote resulting from fertilization developed into large numbers of very slender trypanosomes, which were distinguished as male, female and indifferent. The male forms, as well as the female ones, were incapable of reproducing, but the latter could become indifferent and multiply under this form. The indifferent forms were the only ones endued with aptitude to reproduce; when inoculated by the mosquito, they recommenced the vertebrate cycle.

As soon as these statements of SCHAUDINN were divulged, they were fully confirmed by EDMOND and ÉTIENNE SERGENT, becoming generally accepted. To be sure, NOVY and MCNEAL, using their then newly developed method of cultures in blood agar, showed that only the trypanosomes were able to grow in that medium, no signs of multiplication of the halteridia having been observed. Therefore they concluded that SCHAUDINN's observations had been made in birds with mixed infections. However, this impugnation seems not to have been at once disadvantageous to acceptance of SCHAUDINN's results.

The problem presented itself as outlined above when ARAGÃO started his observations on *Haemoproteus columbae*.

Setting about his experiments, he was unable to transmit the infection by the bite of *Culex fatigans*. Looking for another transmitting host, he directed his attention to some species of *Lynchia*, the widespread blood-sucking pigeon fly. In the contents of the stomach of flies which had fed on infected pigeons. he always found numerous oökinetes, regarding the latter as the final developmental stages of the parasite in the insect. In the meantime, the SERGENT brothers demonstrated the role of *Lynchia* in the transmission of *H. columbae*.

It was believed by ARAGÃO that at the moment of biting the fly would regurgitate a part of the food contained in its stomach, in that manner inoculating the oökinetes into the pigeon; so, he regarded the oökinete as the infective form. It remained for ADIE to show some years later that the cycle of *H. columbae* in the fly is comparable to that of malarial parasites in mosquitoes, ending with the production of sporozoites which are eliminated through the salivary glands.

ARAGÃO's investigations were intended primarily to verify in *H. columbae* the alternating generations described by SCHAUDINN. Remembering the decided influence of the German protozoological school upon his scientific formation it is noteworthy that, his first attempts being apparently unsuccessful, he soon decided to discard the Schaudinnian views, which at the time were followed by the great German masters, in order to search for other notions, whichever they might be, through his own exertions towards disclosing secrets then regarded as already

unveiled. In his papers he disregards discussing the transformation of the oökinete into trypanosomes in the gut of the mosquito, since he should have considered sufficient the proof arising from the very failure in transmission. He also wastes no time in reasoning against transmutations between halteridia and trypanosomes in the blood of the bird. He advances directly towards the simple and true fact, which consist in the schizogonic multiplication of the parasite in the lung tissues prior to invasion of blood cells.

There is no exaggeration in saying that the discovery of the schizogony cycle of *H. columbae* represented a decisive step in protozoological progress. Besides demonstrating beyond doubt the incorrectness of the notion of alternating generations in the sense given it by Schaudinn, it contributed towards a better knowledge of the evolution and systematics of hemosporidia among the Sporozoa.

It is generally thought that hemosporidia were evolved from the intestinal coccidia through a process of adaptation to the blood environment. A significant progress towards a closer adjustment of this generalization to the reality of facts resulted from the discovery of a schizogony cycle of malarial parasites within tissue cells of the vertebrate host. And no previous knowledge was so helpful in facilitating the interpretation of such schizogony in tissue cells as that of its existence in Haemoproteidae. In this connection, Aragão was the first one to point to a blood protozoon capable of multiplying by schizogony in tissue cells.

The evolution of hemosporidia from the intestinal coccidia suggests as it were the existence of an orthogenetic trend directing that evolution towards a closer and closer adaptation to the internal environment of the host. In the genus *Cryptosporidium* the parasite performs the schizogony and sporogony cycles on the outside of the cell, attached to the surface of the epithelial lining of the host's gut. In the genus *Selenococcidium* both cycles start in the intestinal lumen and end within the lining epithelial cells. In the numerous species of the family Eimeriidae, the sporozoite enters the intestinal cell immediately after dehiscence, there performing the whole schizogony and sporogony cycles. In the genus *Caryotropha* the tendency to surmount the barrier of the epithelial lining becomes established, schizogony and sporogony taking place in the spermatogonia of the body cavity, the resulting oöcysts escaping with the semen to the outside of the body. In the genus *Aggregata* the schizonts develop within connective cells of the peri-intestinal membrane. Since there exists no natural route of escape from the infected region, a new adaptation arises which consists in the alternation of hosts; the first host being ingested by the second one, the parasite performs the sporogony cycle in the latter. In the family Lankesterellidae, the genus *Schellackia* represents the transition from the intestinal coccidia to the hemosporidia. The sporozoite develops into schizonts in the intestinal epithelium, where the microgametocytes

also develop; the macrogametocytes develop in the cells of the peri-intestinal connective tissue, where fertilization ensues. Ripening of the oöcyst takes place *in loco*, so that by its rupture the sporozoites are poured into the circulating blood, enter the blood cells, being sucked up with the blood by the invertebrate host; the latter being ingested by the vertebrate, the sporozoites are transferred to the gut of this latter. In *Lankesterella*, a genus of the same family, the sporozoite no longer gains entrance through the digestive route, being introduced directly into the blood of the vertebrate by the agency of a leech. In this genus a decisive step is given towards adaptation of the parasite to the internal environment of the host, by the concentration of schizogony and sporogony in the endothelial cells of the blood capillaries; by rupture of the oöcyst, the sporozoites escape into the blood, from which they are withdrawn by the invertebrate. In Haemoproteidae the sporozoites enter the endothelial cells in order to develop into schizonts, as in the preceding instance. The gametocytes, however, are transferred to the blood corpuscles, thus facilitating their passage to the transmitting insect, to which the sporogony cycle is transferred.

Now we are able to understand the decided influence of a previous knowledge regarding the schizogony cycle of *H. columbae* on the studies that led to demonstration of a similar cycle of plasmodia in tissue cells.

In 1926 it was said by Wenyon, with respect to the Plasmodiidae, on p. 909 of his *Protozoology*: "It may be claimed that their cycles of development are completely known, though certain details of this development and many of the factors which regulate it have yet to be elucidated." In another passage from the same book (p. 882) that author stated, in comparing the life cycles of Haemoproteidae and Plasmodiidae: "In the Plasmodiidae another advance is made, for the sporozoite injected by the invertebrate, instead of entering the endothelial cells of the vessels to initiate the schizogony cycle, directly invade the red blood-corpuscles themselves, in which the whole schizogony cycle terminating in the production of gametocytes takes place."

A series of facts, however, which we need not mention here, insistently pointed to the necessity of reinvestigating the earliest developmental stages of the plasmodia in the vertebrate host. A great deal of indirect evidence suggested the working hypothesis, which proved highly fertile, that a schizogony comparable to that of *Haemoproteus* must occur in the life cycle of plasmodia. That in the species of the latter the sporozoite should enter a tissue cell (as it does in all the other species of the order Coccidiida) and not a blood corpuscle, would be regarded as more natural by one who kept in mind the successive evolutionary steps of the members of the order towards the internal environment of the host. In that manner, the Plasmodiidae might be thought of as arising from the Haemoproteidae through the transference to the blood of a portion of the tissue schizonts, a situation resulting from an additional step in the process of adaptation to the internal

environment, rigorously according to the expected consistency with the evolutionary trend of the order. A clearer indication of the close relationship existing between the two families was so realized, the latter being distinguished from each other only by the presence or absence of schizonts in the blood corpuscles.

When the findings of exoerythrocytic schizonts in plasmodia confirmed the above theoretical views, the minds of all those working on the subject converged to the findings of Aragão, which had been made some thirty years before. Indeed, the newly discovered exoerythrocytic forms remarkably resembled the schizonts of *H. columbae*. Many of the subsequent investigations have revealed other analogies, in addition to the morphological ones, between the tissue schizonts of plasmodia and halteridia, being worthy of mention those relating to their behaviour under the action of drugs. Other analogies, certainly to be found in the future, may be of help in comparable studies, as for instance in those intended to distinguish between the effects resulting from the activity of the blood and tissue schizonts.

Notas sôbre Rhinastus e Homalinotus
(Col. Curcul. Cholinae)

por

A. da Costa Lima e **C. A. Campos Seabra**

Gênero **Rhinastus**

Rhinastus Schönherr, 1826, Curc. Disp. Meth., 261; 1836, Gen. Spec. Curc., 3: 557; 1844, Gen. Spec. Curc., 8 (1): 1.
Lacordaire, 1866, Gen. Col., 7: 34.
Gemminger & Harold, 1871, Cat. Col., 8, 2534.
Heller, 1906, Stett. Ent. Zeit., 67: 26.
Costa Lima, 1917, Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., 1: 35.
Klima, 1936, Col. Cat., 146: 3.

Genótipo: *Cholus sternicornis* Germar, 1824

O gênero compreendia, além de *sternicornis, latisternus* Chevrolat, 1838 e *granulatus* Roelofs, 1880.

Passemos a considerar estas espécies:

Rhinastus sternicornis (Germar, 1824)

Cholus sternicornis Germar, 1824, Ins. Spec. Nov.: 214, t. 1, f. 4.
Cholus scolopax Dejean, 1802, Cat. Col., 86.
Rhinastus pertusus Dalman, in Schönherr, 1836, 3: 557.
Rhinastus elephas Dupont, in Dejean, 1837, Cat. Col., 3.ª ed.: 308.
Rhinastus pertusus, Lacordaire, 1866, Gen. Col., 7: 38.
Rhinastus sternicornis, Lacordaire, 1866, Gen. Col., 7: 38.
Rhinastus pertusus, Gemminger & Harold, 1871, Cat. Col.: 2534.
Rhinastus sternicornis, Gemminger & Harold, 1871, Cat. Col.: 2534. Taschenberg, 1908, Exot. Käfer: 231, est. 31, f. 39.
Rhinastus pertusus, Costa Lima, 1916, Mem. Inst. Osw. Cruz, 41. Costa Lima, 1917, Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., 1: 36.
Rhinastus latisternus, Bondar, 1921, Chac. Quint., 23: 290, f. 3, 4 e 5.
Rhinastus sternicornis, Costa Lima, 1922, Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., 6: 180.
Klima, 1936, Cat. Col., 146: 3.
Costa Lima, 1936, 3.º Catal. Ins. que Viv. Plantas Br.: 340.

Segundo Costa Lima (1922 e 1936), Roelofs (1880), ao descrever *Rhinastus granulatus*, manifestou a suspeita de *R. pertusus* ser sinonimo de *R. sternicornis*. Chegou mesmo a declarar que era muito provável que os nomes tivessem sido aplicados para os dois sexos de uma mesma espécie. Fôra Jekel que lhe chamára a atenção para essa possibilidade. Bondar sugeriu-a também, por carta, a Costa Lima e este, dissecando diversos exemplares das fórmas consideradas diferentes, verificou, pelo exame da terminália, que os machos correspondem à descrição de *R. pertusus* e as fêmeas à de *R. sternicornis*. Assim, de acôrdo com Jekel, Roelofs, Bondar e Costa Lima, *pertusus* é aqui incluido na sinonimia de *sternicornis*, opinião também adotada por Klima em seu catalogo.

Desta espécie examinamos agora uma série de exemplares, de ambos os sexos, das coleções da Escola Nacional de Agronomia, do Instituto Oswaldo Cruz e de um de nós (Campos Seabra), apanhados nos seguintes Estados: Rio Grande do Norte, Distrito Federal, Estado do Rio, São Paulo e Santa Catarina.

O tamanho dos exemplares varia, nos machos, de 19 a 31 mm e, nas fêmeas, de 18 a 30 mm.

Nos machos o rostrum é irregularmente denteado em baixo (dentes maiores e menores) e as granulações do pronotum, tanto as anteriores, como as dos lados (estas geralmente nuas e mais visiveis) são pouco salientes. Nas fêmeas, são também nuas, brilhantes e mais salientes, porém não tanto como na espécie seguinte.

Margem lateral dos elitros dos machos, no terço proximal, formando aba saliente, cortante.

Processo esternal dos machos em tronco de cone, não mais largo que o femur anterior na parte basal; visto de frente com a parte apical algo achatada e um pouco escavada. Nas fêmeas, sob o aspecto de espinho cônico ponteagudo, que mal excede a altura dos quadris anteriores.

Rhinastus latisternus Chevrolat, 1838

Rhinastus latisternus Chevrolat, 1838, in Guérin, Icon. Règne Animal: 159.
Rhinastus granulatus Roelofs, 1880, C. R. Soc. Ent. Belg. (Ann.) 23: XXXIX.
Rhinastus latisternus, Lacordaire, 1866, Gen. Col., 7: 35.
Rhinastus latisternus, Gemminger & Harold, 1871, Cat. Col., 2534.
Rhinastus latisternus, Costa Lima, 1917, Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., 1: 35.
Rhinastus sternicornis, Andrade, 1928, Arch. Inst. Biol., S. Paulo 1: 137, est. 22: figs. 1-4.
Rhinastus granulatus, Klima, 1936, Col. Cat., 146: 3.
Rhinastus latisternus, Klima, 1936, Col. Cat., 146: 3.

Esta espécie, originalmente descrita de um macho da Bolivia, foi muito bem caracterizada por Chevrolat, o primeiro a chamar a atenção para os caracteres que a distinguem de *sternicornis*.

Examinamos, não só os exemplares de S. Paulo, estudados e figurados por Navarro de Andrade e por ele determinados como *R. sternicor-*

nis, como também uma série de exemplares apanhados na Amazonia em Julho e Setembro de 1943 por A. Parko, sendo um macho de Guaporé e 4 fêmeas do Municipio de Borba.

Nesta espécie notam-se também, como na espécie anterior, grandes diferenças de tamanho, variando as fêmeas de 17 a 22 mm (exs. da coleção Navarro de Andrade) e os machos de 22 mm (exs. enviados por Bondar, sem indicação de procedência) a 25 mm (exs. do Amazonas e de S. Paulo).

Nos machos desta espécie os dentes da face inferior do rostrum são todos muito pouco salientes e mais ou menos do mesmo tamanho; a granulação do pronotum é, como nas fêmeas, mais aparente que em *sternicornis*; o contorno do pronotum é quasi semi-circular; a margem lateral dos elitros não forma, no terço basal, saliência destacada do resto da margem e o processo esternal é espesso; visto de perfil, tem a face anterior, plana e vertical, inteiramente nua e brilhante, terminando em triangulo retangulo.

As fêmeas muito se parecem com as de *sternicornis*, porém o processo esternal, conquanto cônico como nesta espécie, é pouco menos saliente.

Estamos convencidos de que *Rhinastus granulatus* Roelofs, 1880 deva ser idêntico a *R. latisternus*.

Roelofs, ao descrever a espécie, aliás apresentando para a mesma todos os caracteres de *latisternus*, fe-lo desconhecendo a descrição de Chevrolat, pois somente se refere a *pertusus* e a *sternicornis*:

"L'exemplaire unique de cette nouvelle espèce du genre remarquable *Rhinastus* provient de la coll. Reich et porte l'etiquette: "Indiens Guarayos".

Gênero **Homalinotus**

Dionychus subgênero *Homalinotus* Schönherr, 1826, Curc. Disp. Meth., 265.
Homalonotus Schönherr, 1836, Gen. Curc., 3: 584.
Gemminger Harold, 1871, Cat. Col., 8: 2537.
Heller, 1906, Stett. Ent. Zeit., 67: 28.
Desbrochers des Loges, 1906, Ann. Soc. Ent. Belg. 50: 356.
Homalinotus, C. Lima, 1917, Cat. Col., in Arch. Esc. Sup. Agr. Med. Vet., 1 : 69.
Klima, 1936, Col. Cat. 146: 16.

As espécies de *Homalinotus*, conquanto, em sua maioria, distinguiveis dos demais Colineos por um especialista, podem ser, às vezes, confundidas com algumas do gênero *Dionychus*. Aliás, quando se procura estabelecer separação nítida entre os dois gêneros, verifica-se que, dos caracteres genéricos diferenciais assinalados pelos autores, apenas têm real valor o aspecto das tíbias anteriores e a forma dos olhos.

De fato, em *Dionychus*, segundo a diagnose de Schönherr (Gen. Curc., 8: 181), os olhos são "parum convexi"; em *Homalinotus* "ovati depressi".

Parece-nos melhor, porém, estabelecer a distinção dizendo, como fez Heller (1906) em sua chave:

"11' Augen quer, unten etwas verschmälert, ... *Homalinotus*
11 Augen rund oder kurz oval, unten nicht verschmälert".

Quanto ao aspecto das tíbias anteriores, realmente nota-se a presença de um dente mediano, mais ou menos robusto, em quase todas as espécies de *Homalinotus*, exceto nas do subgênero *Anotiscus*, que têm as tíbias anteriores inermes ou, quando muito, com ligeira saliência mediana. Tal dente ou saliência, que nos conste, não se encontra em espécie alguma de *Dionychus*.

As espécies do gênero *Homalinotus* foram distribuidas por Desbrochers des Loges (1906) em tres gêneros — por nós considerados subgêneros — que podem ser reconhecidos segundo os caracteres referidos na seguinte chave:

1 — Pernas relativamente alongadas e finas; tíbias anteriores, às vêzes, apresentando ligeira saliência no meio ..... **Anotiscus**
1' — Pernas mais curtas e robustas, tíbias, pelo menos as anteriores, distintamente denteadas no meio da borda interna 2
2(1') — Pronotum trapezoidal; margem basal do élitro formando, com a do lado oposto, ângulo obtuso; ângulos humerais distintamente adiante da linha tranversal passando pela base do escutelo; fêmures anteriores bidentados ..... **Sphenus**
2' — Pronotum geralmente estreitando-se bruscamente do meio até o ápice; élitros, na base, quase numa mesma linha transversal; fêmures anteriores, como os demais, unidentados ..... **Homalinotus**

Do subgênero *Sphenus* Desbrochers des Loges, 1906, examinamos um exemplar da espécie genótipo, *S. validus* (Olivier, 1790), apanhado em Utinga (Pará), em I-1920 por Dario Mendes (n.º 5757 da coleção da E.N.A.) e um exemplar de *S. perplexus* Desbrochers, 1906, a outra espécie do subgênero, apanhado em Manaus, IV-1935. O exemplar foi determinado por F. Lane e J. Moure e pertence à coleção do Horto Florestal Navarro de Andrada da Companhia Paulista em Rio Claro. O inseto apresenta as caracteristicas assinaladas na descrição do autor.

Não conhecemos *Homalinotus distinctus* (Chevrolat, 1878), considerado pelo autor semelhante a *validus*. Sendo a descrição deficiente, não se pode dizer se o inseto é um *Sphenus* ou um *Homalinotus*.

Do subgênero *Anotiscus* Desbrochers des Loges, 1906, foram descritas quatro espécies: *humeralis* (Gyllenhal, 1836), do Brasil; *lherminieri* Chevrolat, 1878, de Guadeloupe (= *umbilicatus* Desbrochers, 1906); *densatus* Desbrochers, 1906 e *inermis* Desbrochers, 1906 (= *inermicrus*) do Brasil, que se grupam nas divisões seguintes:

1 — Espécie pequena (comp. 16 a 18 mm; larg. 7 a 9 mm); de côr negra brilhante e corpo glabro; pronotum, na base, profundamente impresso; espaduas arredondadas; fêmures providos de pequeno dente agudo; de Guadeloupe ..... **lherminieri** (= *umbilicatus* Desbrochers)
1' — Outro aspecto 2

2(1') — Fêmures inermes; scutellum convexo; pronotum, na base, sem sulco; élitros apresentando, adiante do ápice, crista curta elevada; tíbias subretas; de Cayenne ..... **inermis**

2' — Fêmures, pelo menos os anteriores e médios, distintamente dentados; scutellum plano ou ligeiramente concavo 3

3(2') — Sulco pronotal alargando-se adiante do scutellum e prolongando-se alem do meio do pronoto; granulação do pronoto algo diferente da dos élitros ..... **humeralis**

3' — Sulco pronotal não se alargando adiante do scutellum nem se prolongando até o ápice do pronoto; granulação do pronoto idêntica à dos élitros ..... **densatus**

Descrevendo *A. densatus* de um exemplar macho, DESBROCHERS DES LOGES diz:

> "Forma, statura et color *A. humeralis* Gyll.; differt prothorace elytrisque densiore, aequaliter, granulatis, granulis minoribus, striis elytrorum indistinctis; prothorace anguste longitudinaliter sulcato; femoribus distincte dentatis; ventre base late impresso, ♂. Brésil.
>
> Très voisin de *A. humeralis* dont il se distingue facilement par la granulation très serrée et égale du dessus, les grains étant beaucoup plus petits et de même grosseur sur les élytres que sur le prothorax; par le sillon de ce segment étroit, non élargi à la base, prolongé jusqu'au sommet, etc..."

Homaïnotus humeralis e *H. densatus* devem ser muito próximos. Poder-se-ia suspeitar na identidade das duas espécies, todavia, pela descrição original de *humeralis* e conforme tivemos o ensejo de verificar, examinando dois exemplares da espécie apanhados no Perú (n.º 5720 da coleção do Instituto Oswaldo Cruz) e outros determinados como *humeralis* e guardados nas coleções dos Museus de Historia Natural de Bruxellas e de Paris, os élitros dos machos apresentam os ângulos humeraies providos de tufos ou pincel de longos e densos pêlos de côr parda ou brunea pálida (as fêmeas não os apresentam).

Ora, no exemplar holótipo de *densatus*, um macho, não foi assinalado tal tufo e não é de crer que o mesmo tenha escapado à observação de DESBROCHERS. Acreditamos, pois, que *densatus* seja bôa espécie; todavia faz-se necessária melhor caracterização que o distinga de *humeralis*.

Há na coleção do Instituto dois exemplares de um *Homalinotus* (n.º 5686 e 5687), apanhados por A. PARKO no municipio de Borba (Amazonas), com caracteres de *Anotiscus densatus*. Possivelmente as mínimas diferenças observadas em relação com a descrição desta espécie, devem ser diferenças sexuais, pois os exemplares são fêmeas.

Na mesma coleção há um Colineo (n.º 5643), apanhado em Junho de 1942 por PARKO em Benjamin Constant (Amazonas), com todos os caracteres de *Abebaeus cristatus* Kirsch, 1869. A primeira vista pensamos que se tratasse de uma fêmea de *Anotiscus humeralis*. Todavia, o exame cuidadoso do inseto revelou-nos ser a espécie acima referida, na qual, não há sulco algum na base do pronotum.

As espécies de *Homalinotus* (*Homalinotus*) podem ser reconhecidas mediante a seguinte chave:

1 — Disco do pronotum e parte dorsal dos élitros planos, às vêzes, um tanto escavados (Stirps 1 de Schönherr — "Disco elytrorum valde deplanato"); pronotum não sulcado na base 2

1' — Disco do pronotum e parte dorsal dos élitros convexos ou não deprimidos (Stirps 2 de Schönherr — "Disco elytrorum perparum convexo"); pronotum quase sempre, com sulco (ou fovéola) longitudinal mais ou menos profundo e alongado adiante do scutellum 6

2(1) — Espécie de côr parda-acinzentada, mais ou menos escura; pronotum mais ou menos fortemente anguloso de cada lado (hexagonal); nos machos a parte angulosa do pronotum revestida de pêlos ruivos e os élitros não ou fracamente nodosos; nas fêmeas as partes laterais proeminentes do pronotum não revestidas de pêlos e os élitros distintamente nodosos na parte dorsal em uma saliência cariniforme anterior, para trás e para dentro dos ângulos humerais e outra tuberculiforme, maior, para trás e para dentro daquela e a igual distância da bossa elitral ..... **depressus**

2' — Espécies negras, glabras ou apresentando escamas amarelas, ocráceas ou brancas, não raro formando faixas laterais ou máculas irregularmente dispostas; élitros sem qualquer vestígio de tubérculo ou bossa entre a área plana dorsal e a declive lateral 3

3(2') — Espécie distintamente marcada com duas largas faixas ocráceas laterais, dirigidas da margem anterior do pronotum, um pouco acima dos lobos oculares, até a parte posterior dos élitros, onde se alargam, cobrindo o quarto ou terço posterior da sutura ..... **deplanatus**

3' — Espécies completamente negras 4

4(3') — Espécie relativamente pequena (de 1 a 2 cm. de comprimento), inteiramente sem escamas; estrutura elitral característica: com profundas impressões, algo alongadas, separadas por espaços praticamente lisos e foscos, sem granulações, principalmente na área plana dorsal ..... **porosus**

4' — Espécies de vários tamanhos e de estructura elitral diversa 5

5(4') — Espécie pequena (exceto o rostrum, 14 mm. de comprimento por 7 mm. de largura), siláceo ou ocráceo-escamosa, tanto no torax, como nos élitros e na face ventral; élitros remota e profundamente seriado — pontuados, conjuntamente arredondados no ápice ..... **conspergatus**

5' — Espécie maior (de 24 a 36 mm. de comprimento); élitros, se não distintamente armados de pequeno dente apical, pelo menos algo acuminados perto da ponta; pronotum distintamente achatado, não raro com duas depressões pouco profundas perto da margem posterior e de cada lado da linha média (? *colosseus*) ..... **platynotus**

6(1') — Protorax, em baixo, não ou fracamente escavado em sulco longitudinal adiante dos quadris anteriores; élitros estreitando-se mais acentuadamente para o ápice 7

6' — Protorax, em baixo, longitudinalmente escavado em sulco mais ou menos profundo entre saliências, tubérculos ou processos rombos granulosos, imediatamente adiante dos quadris anteriores; élitros estreitando-se gradualmente desde a base 10

7(6) — Corpo, visto de perfil, distintamente convexo da cabeça ao ápice dos élitros; rostro quase reto, robusto e, medido desde o ângulo gular, mais longo que o prosterno; élitros foscos; diminutas escamas creme, uniforme e densamente revestindo as depressões entre as granulações pronotais e elitrais; granulações dos sulcos elitrais muito pequenas e afastadas; as dos intersticios aglomeradas em duas ou tres séries, porem não umbilicadas ..... **squamulosus**

7' — Corpo, visto de perfil, não tão convexo da cabeça ao ápice dos élitros, como na espécie anterior; rostrum mais ou menos recurvado e, medido desde o ângulo gular, tão ou um pouco mais longo que o prosterno; escamas creme, se presentes no pronoto ou nos élitros, formando máculas irregulares, mais ou menos afastadas; granulações dos sulcos elitrais ausentes ou presentes, neste caso, mais ou menos semelhantes ás dos intersticios 8

8(7') — Corpo inteiramente negro e fosco; estrias elitrais representadas por depressões lineares mais ou menos profundas e separadas por interstícios constituidos pelas granulações que confluiram inteiramente, quase como em **porosus**; base do pronoto largamente deprimido no meio. ..... **matogrossensis**

8' — Corpo com as granulações pronotais e elitrais mais ou menos brilhantes 9

9(8') — Espécie de tamanho variavel, apresentando distinto sulco longitudinal e mediano da margem posterior do pronoto para diante, geralmente mais longo que o dobro do comprimento do escutelo; granulações elitrais umbilicadas como as das partes laterais do pronotum .. **coriaceus**

9' — Espécie pequena (17 a 18 mm de comprimento) com o pronotum indistintamente sulcado adiante do escutelo, apenas largamente deprimido nessa parte; granulações elitrais lisas, não umbilicadas como as do pronotum; este e os élitros, como na espécie precedente, com grupos de escamas de côr creme ou inteiramente nú, negro, portanto .... **bolivianus**

10(6') — As escamas de côr creme dos élitros irregularmente dispostas em faixas transversais 11

10' — As escamas de côr creme dos élitros regularmente dispostas em 2 ou 3 máculas arredondadas ou punctiformes, às vezes totalmente ausentes ou apenas uma ou duas pouco perceptiveis ..... **hystrix**

11(10) — Pronoto sòmente com as duas áreas escamosas subcirculares da parte anterior; espécie menor (de 16 a ? 21 mm. de comprimento); parte basal dos élitros e aproximadamente parte do terço posterior com faixa flavo-escamosa; rostro relativamente fino; estrias com os pontos deprimidos retangulares. ..... **fasciatus**

11' — De cada lado da base do pronotum, uma pequena mácula de escamas de côr creme, aproximadamente da extensão do escutelo, além das áreas escamosas sub-circulares anteriores ..... **Aragaoi**

Homalinotus depressus (L., 1764)

Curculio depressus L., 1764, Mus. Lud. Ulr.: 498
Curculio indus De Geer, 1775, Mém.: 265, I. 15, f. 22
Curculio jamaicensis Fab. 1781, Spec. Nov., 1: 173
? *Homolonotus nodipennis* Chevrolat, 1878, Bull. Soc. Ent. Fr.: CLXI,
? *Homalonotus complanatus* Chevrolat, 1878, Bull. Soc. Ent. Fr.
Homalonotus depressus, Desbrochers des Loges, 1906, Ann. Soc. Ent. Belg. 50: 356

[Para outras indicações bibliográficas, desta e das demais espécies aqui examinadas, devem ser consultados os catálogos de Cholinae de Costa Lima (1917 — Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., 1:35-99) e de Klima (1936 — Junk Col. Catal., 146: 32 p.)].

Temos a impressão de que *Homalinotus nodipennis* e *H. complanatus*, ambos descritos por CHEVROLAT em 1878, devem corresponder, respectivamente, à fêmea e ao macho de *depressus* e isto por ser esta espécie muito variavel.

Aliás, as descrições de CHEVROLAT, em geral, são deficientissimas e sem o exame dos exemplares típicos não é possivel firmar as identidades suspeitadas.

Examinámos quase uma centêna de exemplares, em sua maioria da Amazonia (Amazonas e Pará). Encontramos um macho (n.º 5850 da coleção da Divisão da Defesa Sanitária Vegetal) apanhado na ilha São Luiz no Maranhão e outro de Buena Vista (Departamento Sta Cruz, Bolivia).

Na coleção da Escola Nacional de Agronomia ha dois machos, ambos apanhados por F. V. GOTLIEB com a indicação — "Teresópolis". Se ha alguma localidade com este nome na região Amazonica, não temos dúvida quanto à procedência dos exemplares. Se, porem, esse "Teresópolis" é a cidade do Estado do Rio de Janeiro, houve seguramente troca na indicação da procedência.

Na mesma coleção ha um exemplar (n.º 10353), apanhado em Manaus por ZIKAN (n.º 2949, da coleção BONDAR), determinado por G. MARSHALL como *H. nodipennis*. Trata-se seguramente de uma fêmea de *H. depressus*.

As fêmeas têm de 14 a 25 mm e os machos de 15 a 29 mm.

Homalinotus deplanatus (Sahlberg, 1823)

Dionychus deplanatus Sahlberg, 1823, Peric. Ent. 1(3) 43, t. 2, f. 1
Dionychus circumdatus Germar, 1824, Ins. Spec. Nov., 1: 313
Dionychus (Homalinotus) deplanatus, Schoenherr, 1826, Curc. Disp. Meth. :265
Homalonotus deplanatus, Schönherr, 1836, Spec. Curc.: 585, 589 (Tipo do gênero)

Espécie facilmente reconhecivel pela faixa ocrácea de cada lado do pronotum e dos élitros.

Examinamos cerca de 30 exemplares, de 14, 5 a 1 mm., apanhados no Distrito Federal, no Paraná e em Santa Catarina.

Homalinotus porosus (Gyllenhal, 1936)

Homolonotus porosus Gyllenhal, 1836, in Schönherr, Gen. Curc. 3: 590.

Outra espécie bem característica pela côr negra fosca e pelo aspecto das fovéolas dos élitros profundas, algo alongadas e dispostas em séries regulares.

Examinámos cerca de 80 exemplares de 10.25 a 17.5 mm., apanhados nos seguintes Estados: Bahia, Espirito Santo, Distrito Federal, Estado do Rio de Janeiro e Santa Catarina.

Homalinotus conspergatus (Fahraeus, 1844)

Homalonotus conspergatus Fahraeus, 1844, in Schönherr, Gen. Curc. 8 (1): 31

Segundo a descrição original, trata-se de espécie afim de H. (*Anotiscus*) *humeralis*, porem muito menor, pois tem cerca de 14 mm.; apresenta élitros mais curtos, com a pontuação e estrias mais profundas e remotas e as granulações mais raras e mais fracas; o rostrum é distintamente pontuado.

Não conhecemos a espécie. Depois da descrição original, ninguem mais a assinalou.

Homalinotus platynotus (Germar, 1824)

Dionychus platynotus Germar, 1824
Homalonotus colosseus Perty, 1830

Indubitavelmente Gyllenhal (in Schonherr, 1836, 3:587) examinou, pelo menos, um exemplar desta espécie, pois, na curta descrição que apresentou, referindo-se à parte apical dos élitros, assinala "*apice rotundatis, acumine obsoleto auctis*".

De fato, alem do aspecto geral característico, raro é o exemplar cujos élitros não se apresentem, pelo menos ligeiramente, acuminados no ápice.

Perty (1830, Del. Anim. Artic.), descrevendo o seu *Homalonotus colosseus*, diz: "*Dionychus platynotus* Germ. species affinis videtur" e na figura que apresentou (est. 16 fig. 9), veem-se perfeitamente aqueles pequenos dentes elitrais.

Aliás, o maior exemplar de *platynotus* que examinámos da nossa coleção, com cerca de 36 mm. de comprimento, do tamanho e com os caracteres que se vêm na figura de Perty, não difere especificamente de outros de menor tamanho, inclusive um com 25 mm., da coleção do Instituto de Experimentação Agrícola, portador de dentes elitrais bem salientes.

Os outros exemplares por nós examinados, com indicação de procedência, foram apanhados no Rio de Janeiro. Assim, não temos dúvida em considerar *H. colosseus* Perty idêntico a *H. platynotus*.

Releva ponderar que vários autores consideraram exemplares gigantes de *H. coriaceus* como *H. colosseus*, ou *H. colossus* como os designaram. Assim o fez Fahraeus (in Schönherr 8: 32), que, ao descrever *H. colossus*, teve em mãos, seguramente, tais exemplares gigantes de *H. coriaceus*. E é facil chegar-se a esta conclusão porque, em *coriaceus*, vê-se sempre, no meio da base do pronotum, o sulco longitudinal mais ou menos profundo ou alongado, referido por esse autor, característico da espécie.

Desbrochers des Loges (1906) já percebera a impossibilidade de se distinguir *H. colossus* Fahraeus (nec Perty) de *coriaceus,* ao apresentar a seguinte nota:

> "Le *H. colossus* est tellement voisin de cette espèce, que à part sa grande taille, il me semble difficile de trouver un caractère de quelque valeur pour l'en distinguer".

Homalinotus squamulosus (Gyllenhal, 1936)

Homalonotus squamulosus Gyllenhal, 1836, Gen. Sp. Curc., 3: 589
Dionychus squamulosus, Schönherr, 1844, Gen. Sp. Curc., 8: 19
Dionychus squamulosus, Costa Lima, Arch. Esc. Sup. Agr. Med. Vet., 1: 77
Dionychus squamulosus, Klima, 1936, Col. Cat., 146: 19

Examinámos um exemplar, com cerca de 26 mm. de comprimento, da coleção do Horto Florestal Navarro de Andrade (Rio Claro, São Paulo), apanhado por Zellibor em Rio Verde (Goiás) a 7-XI-1945, que apresenta os caracteres referidos na descrição de Gyllenhal para o *H. squamulosus.*

Bem que, pela conformação geral do corpo, se assemelhe a um *Dionychus,* tudo nos leva a classificar o inseto como um *Homalinotus,* aliás como o fêz Gyllenhal na descrição original.

Conquanto não saibamos porque, mais tarde, Schönherr classificou *squamulosus* em *Dionychus,* acreditamos que se tenha impressionado pelo aspecto geral há pouco referido, esquecendo-se, porém, de considerar outros caracteres mais importantes, como a forma dos olhos de contôrno elíptico e com a parte inferior distintamente mais estreita que a superior, e as tíbias anteriores e médias denteadas, sendo o dente pouco menos desenvolvido que em *coriaceus,* do qual realmente se aproxima, como bem disse Gyllenhal.

A única diferença de alguma importância que vemos na descrição de *squamulosus,* comparada com o que se nota no nosso exemplar, é ser o rostro neste fracamente arqueado. Na descrição daquela espécie lê-se, tão somente, "arcuatum", como aliás se lê tambem na de *coriaceus,* no qual, como se sabe, o rostrum é distintamente arqueado.

Homalinotus matogrossensis sp. n.

Espécie com os caracteres gerais de *coriaceus* e de *porosus*. Como nesta última, o corpo é inteiramente fosco. Rostrum um tanto recurvado e atingindo o mesosternum. Pronotum quase plano, porem não tanto como em *porosus,* ligeiramente deprimido na área basal imediatamente adiante do escutelum. Élitros não deplanados na parte dorsal, como em *porosus,* e sim algo convexos como em *coriaceus,* apresentando linhas mais ou menos profundamente escavadas e mais ou menos alongadas como em *porosus.* Todos os fêmures são dentados e as tíbias anteriores e médias, como em *porosus,* apresentam saliência triangular pouco elevada. Granulações umbilicadas do torax e dos élitros como em *coriaceus.*
Comprimento total: 23 mm.; do pronotum — 7 mm. e dos élitros 16 mm.
Largura máxima do pronotum (perto da base) — 9.5 mm., dos élitros (perto da base) — 11 mm.

Holotipo: um exemplar colhido em Mato Grosso pelo ilustre Zoologo do Museu Nacional, Alipio de Miranda Ribeiro.

Alem do rótulo "Commissão Rondon, Serviço de Zoologia" ha um outro, escrito por Costa Lima em 1915, com a indicação: "*Homalonotus* sp. (p. *coriaceus*)". O inseto pertence atualmente a coleção do Instituto de Experimentação Agricola.

Homalinotus coriaceus (Gyllenhal, 1836)

Archarias tristis Dejean, 1821, Cat. Col. p. 86
Homalonotus coriaceus Gyllenhal, 1836, Schonherr, Gen. Curc. III, p. 588
Dionychus coriaceus Klug, in litt.
Homalonotus coriaceus, Klug, Dejean, Cat. Col. ed. 3, p. 399 (1837)
Homalonotus colossus (Perty) Fahraeus, 1844, in Schonherr, Gen. Curc., 8: 32 (nec Perty, 1830)
Homalonotus coriaceus, Lacordaire, 1866, Gen. Col. VII, p. 40, nota 1, p. 41
Homalonotus coriaceus, Desbrochers des Loges, 1906, Ann. Soc. Ent. Belg., 50, p. 356
Homalinotus coriaceus, Costa Lima, 1917, Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., 1: 70
Homalonotus calvescens Dorhn (sic), C. Moreira, 1921, Bol. Inst. Biol. Def. Agric., 1:
Homalinotus coriaceus, A. Klima, 1936, Col. Catal. 146: 17
Homalinotus coriaceus, Costa Lima, 1936, 3.º Cat. Ins. Pl. Brasil: 340 (Neste trabalho encontram-se todas as indicações bibliográficas relativas à espécie, publicadas no Brasil).

Esta espécie habita quase todas as regiões em que se encontram espécies de *Cocos*. Sobre a etologia, a melhor contribuição que conhecemos é a de Bondar (1940, Insetos nocivos e molestias do coqueiro *(Cocos nucifera)* no Brasil), que deve ser lida por todos aquêles que se interessam pelos danos causados aos nossos coqueiros e como combate-los.

Examinámos muito exemplares procedentes dos seguintes Estados: Bahia, Sergipe, Rio de Janeiro, Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina.

Varia consideravelmente, não somente no tamanho (de 46 mm a 22 mm) como na maior ou menor abundância de escamas creme que formam, às vezes, máculas esparsas sobre o pronotum e sobre os élitros.

Todavia, como carater constante em todos os exemplares examinados (mais de 100), ha um sulco mediano longitudinal, perpendicular à margem posterior do pronotum, adiante do escutelo, geralmente mais longo que o dobro do comprimento deste.

Tambem encontramos tal sulco, bem que menos aparente, em tres exemplares procedentes de Jacutinga (Bahia), com 34 a 36 mm. de comprimento, que nos parecem pertencentes a raça distinta de *coriaceus,* principalmente pela conformação do corpo, com a parte elitral relativamente mais alongada que nesta espécie.

Homalinotus bolivianus sp. n.

Espécie relativamente pequena (17 a 18 mm de comprimento).

Examinámos quatro exemplares: tres apresentam o pronoto, aos lados, e os élitros revestidos de escamas de côr creme, que neste formam manchas ou faixas transversais de contorno irregular, o outro é quase totalmente desprovido de escamas, que se dispõem em grupos pouco extensos sobre as partes laterais do pronotum.

Em todos, porem, as granulações dos élitros, bem que algo semelhantes às de *coriaceus*, não se apresentam umbilicadas, ao contrário das do pronotum, que são distintamente pontuadas no meio.

Não ha tambem nesta espécie o sulco basal do pronoto, que se apresenta, adiante do escutelo, apenas longitudinalmente deprimido. Tambem o prosternum é longitudinalmente escavado, não distintamente sulcado, por isso que, adiante dos quadris, ele se apresenta um tanto saliente formando ligeira bossa.

Nos demais caracteres a espécie realmente muito se aproxima de *coriaceus*.

Cótipos: Quatro exemplares apanhados em Buena Vista, Prov. de Ichile, Departamento de Santa Cruz, Bolivia; n.º 5799, col. Instituto Oswaldo Cruz.

Homalinotus hystrix (Olivier, 1790)

Curculio hystrix Olivier, 1790, Encycl. Meth., 5: 503
(Ver as indicações bibliográficas nos catálogos de Costa Lima (1917) e de Klima (1936).

Examinámos quatro exemplares, seguramente desta espécie, apanhados nos Estados do Amazonas e do Pará, facilmente reconheciveis pelas áreas de escamas côr creme, relativamente grandes, nos élitros (uma basal e uma anteapical, em cada um) e de cada lado da parte anterior do pronoto.

Em alguns exemplares vê-se, para trás e para fóra da mácula basal, junto à borda externa do élitro, mácula bem menor, de escamas da mesma côr, às vêzes punctiforme.

Examinámos tambem dois outros exemplares procedentes de Maués, Amazonas (N.º 534 e 5325 da coleção do Museu Paranaense), que apresentam, nos mesmos lugares em que se veem aquelas áreas basais, pequenas máculas de escamas creme. O processo antecoxal em um deles é arredondado no ápice (rombo), no outro com aspecto de saliência granulosa. Aliás, esta diferença, seguramente sexual, corresponde a diversidade de aspecto do rostrum que, no sexo portador de saliências antecoxais granulosas, seguramente macho (exemplares mais robustos) é mais espesso e a face superior fica no mesmo nivel da fronte. No outro sexo o rostrum é mais delgado e a face superior do mesmo, fica em plano um pouco inferior ao da fronte.

Além dos exemplares referidos, vimos outros apresentando as mesmas diferenças quanto ao aspecto do rostrum e dos processos antecoxais, porém notáveis pela ausencia completa de máculas de escamas de côr creme ou esbranquiçadas no pronoto e desaparecimento total ou parcial de áreas puctiformes, da mesma côr, nos élitros.

São oito especimes de uma coleção procedente do Alto Amazonas (Benjamin Constant, Borba, Rio Juruá da col. Campos Seabra e um de Satipo (Peru), da coleção Zikán, atualmente guardado no Instituto Oswaldo Cruz.

Homalinotus fasciatus (Desbrochers, 1910)

Homalonotus fasciatus Desbrochers des Loges, 1910, Ann. Soc. Ent. Belg. 54, p. 131

Homalinotus fasciatus, Costa Lima, 1917 Cat. Col., in Arch. Esc. Sup. Agr. Med. Vet., 1: 72

Homalinotus fasciatus, Klima, 1936, Col. Cat. 146: 17

Parece-nos pertencente a esta espécie, a julgar pela descrição de Desbrochers des Loges, um macho com cerca de 17 mm. de comprimento apanhado por J. Carvalho em Pirituba, Pará.

Examinámos também um exemplar da coleção Zikán, bem mais robusto que aquele (21 mm. de comprimento), porem apresentando nos élitros identico tipo de estriação e de pontuação e semelhante distribuição das máculas de escamas de côr creme.

Em ambos os exemplares veem-se processos antecoxais granulosos e algo mais salientes que os quadris anteriores.

O exemplar maior foi tambem apanhado no Pará, em Vitoria (Rio Xingu).

Homalinotus Aragaoi, sp. n.

Espécie relativamente grande (da fronte ao ápice dos élitros — 24 mm.), que se distingue de *hystrix* por apresentar as escamas de côr creme dos élitros irregularmente distribuidas em grupos, mais perceptiveis na metade basal do élitro, sem formar, todavia, nitidas faixas transversais como na especia precedente; demais, vê-se, perto dos angulos posteriores do pronoto e adjacente á margem posterior, pequena porém distinta mácula de escamas de côr creme, de área aproximadamente equivalente á do escutelo. Na parte anterior do pronotum, de cada lado e para traz dos lobos oculares, encontra-se área de escamas creme, de forma identica a das outras maculas, aproximadamente tão longas quanto o dobro da largura da escama, portanto pouco mais curtas que em *hystrix* e ainda mais que em *fasciatus*.

O rostrum é robusto, espesso e um pouco mais curto que a cabeça e o protorax reunidos. Adiante dos quadris anteriores, vêm-se processos granulosos, relativamente robustos e truncados, não excedendo o nivel daqueles.

Holótipo: Um exemplar com o seguinte rótulo: Barra (Bahia), Rio Grande c/5 XII-1944. A Parko col., da col. Campos Seabra.

O nome da espécie foi dado em homenagem ao nosso velho amigo Prof. Henrique Aragão.

Alem das especies aqui referidas, ha a citar o *Curculio cyanicollis* Olivier, 1790, da America Meridional.

Trata-se de especie a ser investigada, pois, que nos conste, ninguem mais a examinou depois do autor. Apenas Schönherr, classificando-a em *Homalinotus*, disse: "Forte hujus generis; mihi invisus".

Observações biogeográficas durante a abertura da Barra da Lagoa de Saquarema

por

Lejeune de Oliveira & Luiza Krau

(Com 6 estampas)

O presente trabalho trata de observações ecológicas durante a abertura da barra de uma lagôa, operação às vezes dificil, e nem sempre seguida de 100% de sucessos, às vezes cheia de surprezas.

Em Saquarema houve vários locais onde teve barra, por dois processos: um, o natural, a barra se abria sozinha e outro, artificial, cavando-se. Várias condições fisiográficas, hidrograficas, meteorológicas, químicas, limnológicas indicavam o local para se operar o sangrador, vertedor, ou canal. Como os autores modernos julgam que as indicações ecológicas sejam sempre úteis, vamos descrever as principais associações vegetais e animais, junto das, ou, nas barras.

Sob o ponto de vista ecológico a barra da Lagôa de Saquarema já tem sido aberta cortando-se: 1.º, um iresineto, depois um paspaleto e zonas com *Ipomaea pes-caprae, Acicarpha* e *Sophora*. 2.º, um *Paspaletum racemosum,* depois um *Paspaletum appressum,* com muita *Telanthera,* e sobre um *Remirietum.* 3.º, somente cortando-se um *Iresinetum portucaloides.* 4.º, Em *Stenotaphretum* depois outras zonas Lagenocarpetos, zonas com pitangas, bromelias. Os locais estão indicados no mapa da Estampa I pelas setas das secções I, II, IV e por "Barra de Itauna". O mapa da estampa I é topograficamente original, mostra as praias nos dias 10 de Julho até 2 de Agosto de 1955, é redução de uma planta na escala 1 1000 levantada por nós, com a precisão e os detalhes suficientes para o presente trabalho. A estampa reduzida está na escala 1/5000.

Umas vezes a tradição, outras vezes o poder maior de um determinado grupo indicava o local ótimo para a abertura. Às vezes havia vantagem de abertura de barra para os que estavam na laguna vizinha à barra, mas tal abertura era prejudicial aos que estavam nas lagunas interiores; se estes estivessem com as forças políticas, econômicas e práticas estes não deixavam abrir barra, mas, se o outro grupo fosse o mais forte, a lagôa seria aberta. Além disso, a lagôa tinha que ser aberta de

acordo com as condições do momento: marés, ventos, existencia de cardumes no mar, e se a lagôa estivesse em um nível tal que permitisse escorrer para o mar; o nivel mais alto era, e é, sempre dependente das chuvas: havendo estiagem a lagôa não sobe, e assim não pode ser aberta (o que aconteceu de 1952-1955, nos 3 anos que ficou fechada).

O corte, por exemplo, feito antigamente na Seção II (Est. I) no "meio" da barra de areia do Outeiro N. S. de Nazaré até ao Laguinho, foi o local de uma barra muito forte, as aguas vinham diretas da ponte (7, 11 Est. I), a abertura ficava enorme, esvaziava rapidamente a lagôa, determinava destruição das ilhotas e corôas do Saco de Fora, (8, 9, 10, 17) mas esta barra fechava-se muito rapidamente, o mar entrava com violencia, entrava peixe, mas tambem saia todo o que estava na Lagôa.

A barra junto à pedra, "Barra de Itauna" Est. 1, sempre foi bôa, e mantinha-se aberta durante vários trimestres. Em 1954 foi construido um molhe de pedras (23-24 Est I) em direção paralela à Praia de Itauna; este experimentado em 1955 não deixou que a violencia das ondas desmoronasse ou solapasse partes da cidade, porque as aguas da lagôa que vinham pela ponte (7, 11) faziam um S (18, 27, 33, 34 Est I), assim as aguas do mar para entrarem na lagôa perdiam muita carga. A largura desta barra manteve regularmente com seus 50 metros, desde 8 de Julho até 2 de Agosto; os pescadores, graças a este molhe, puderam colocar os dois cercados nos cotovelos do canal, um no ponto 24, e outro no ponto 27 da estampa I, fotografias n.º 2.

O canal desta barra atuou bem, a agua do mar correu nos dois sentidos, até que infelizmente foi fechado pelo vento sudoeste na lua cheia de Agosto, deste 1955. Nos cercados foram colocadas as redes; quando a maré subia tiravam as redes para os peixes entrarem do mar para a lagôa, quando a maré descia colocavam as redes para os peixes da lagôa e os que entraram não fugirem para o mar. Foi este molhe que permitiu colocação de tais redes. Desde 8 de Julho até 30 não houve pesca, nem movimento de barcos ou canôas na lagôa. Dia 30 de Julho, com estouros de foguetes, foi anunciada a licença para pescarem. Então colocaram suas redes, cercados, trimombós e guanchos que tinham sido cuidadosamente preparados aguardando este grande dia. As tainhas de lagôa *Mugil lisa* pulavam espetacularmente nos cercados, estavam impressionantemente gordas.

Vejamos as várias barras:

I. — PRAIA DA BARRA NOVA

Local onde no século XVIII e XIX a barra se abria naturalmente. Mostremos a seção ecológica feita em Barra Nova (I até 27 Est. I; Est. II). A barra passava a oéste do Outeiro N. S. de Nazaré, a praia tem hoje, e sempre deve ter tido cerca de 70 metros de comprimento no rumo SE-NW, mas no século passado era de largura maior que a atual, pois no rumo nordeste possuia outrora seus 100 a 200 metros. Foi de altitude menor que as que ficam vizinhas: Praia de Itatinga (21, Est. I) e a

Praia de Itauna, pois as aguas nas marés de sizigia com equinóxio passavam por cima dela, alcançavam lagôa, como se fosse por cima de lido de areia. A lagôa se esvaziava entre duas rochas: Itatinga e o Outeiro de N. S. Nazaré (ou Ponta de Saquarema). Devido ao aterro ligando o outeiro á cidade foram melhoradas as ruas Dr. Januário, Aguillar Moreira; aterro de 15 000 m² (cobriu os pontos 22 — 26 do mapa da Est. I). Note-se que no local acham-se vários ossos de índios tamóios, ainda hoje. O aterro foi feito com material de sambaquís, retirado de perto do Laguinho (6 — Est. I, latitude 22 56'). O aterro impediu que as aguas do mar invadissem a lagôa, vindas de sudoeste, com vento tornam-se muito violentas. Permitiu á população um acesso sempre fácil à Igreja N. S. Nazaré (32 Est. I) que foi reformada por ocasião que foi feito tal aterro, assim, mesmo em dias de tempestade o povo passou a poder, passar, e assistir aos oficios religiosos, e á grande festa popular de N. Senhora de Nazaré, em 8 de Setembro. Tambem pode-se subir no outeiro e apreciar a grande beleza panorâmica. Como tal barra foi a que funcionou durante 4 seculos, desde o tempo do descobrimento, não deixaremos de assinalar algo sobre sua ecologia.

SEÇÃO DA ANTIGA BARRA, Chamada de "BARRA NOVA".

(I — 27, Est. I e Seção I, Est. II e fotografia n.º 4)

Segundo as nossas observações, na Praia da Barra Nova, e com a precisão suficiente para tais estudos ecológicos, delimitamos o nivel médio do mar, no meio do estrato de sururús e mexilhões, *Mytilus* sp, *Mytilus platensis,* onde as aguas oceânicas passam cobrindo 0.6 m na preamar, e 0.6 m na baixamar, de marés mortas, pela época dos quartos de lua, sem ventos. As rochas de granito do outeiro, vistas por cima, e como nós figuramos no mapa, do lado da praia de Barra Nova, são todas fendidas na direção leste oeste, e as fendas dirigem-se para Ponta Negra, em Maricá (I, Est. I) São rochas que ocupam 1/2 hectare, e são ligeiramente diferentes dos granitos ao sul do outeiro, 38 — Est. I, que são mais arredondados e ocupam cerca de 1 hectare.

Tomemos como estaca Zero o ponto no meio da camada de mexilhões *Mytilus,* na pedra que fica mais para perto da praia (pedra I) no canto oéste do outeiro. Façamos a planta topográfica e perfil de uma área de com 5 metros de largura, no rumo de 35.º nordeste, até chegar à lagôa, este perfil terá 135 metros de comprimento — tal é a nossa seção I.

Podemos raras vezes observar, nos baixamares muito fortes, abaixo e para fora desta estaca Zero, a outra zona que foi de côr rosada, com várias esponjas, em Junho-Julho 1955, mas impossivel de aproximação fácil, pela violencia do mar. A nossa seção I desde 0 metro até 8 metros está ocupada por mexilhões; se seguirmos toda a sua curva de nivel e passeando ao redor das pedras do outeiro, veremos que raro alcançam 10 metros de largura; estes moluscos crescem mais nos locais em que

as pedras tem uma declividade de 6%; pode-se avaliar que a superficie criadora destes *Mytilidae* ao redor do outeiro, seja apenas uma área de 2 000 m².

Acima dos mexilhões (8 — 12 metros, Est. II) continúa uma camada parda, clara, com várias feofíceas, alguns sargassos, umas rodofíceas, por onde caminham vários moluscos, entre eles os "seguritás", um *Purpura* sp. Em nivel pouco mais alto, na distancia de 11-14 metros, uma franja de limo verde brilhante, como vários pinceis feitos de cabelos verdes, por algas *Chetomorpha*. Na distancia de 14 — 20 metros da linha média de arrebentação encontra-se a zona das caracas, com os *Crustacea*, cirrípedes: *Chthamalus stellatus, Balanus* sp., e *Tetraclita porosa*, alguns *Balanus tintinnabulum*. Nas rochas continua a zonação de pedras, de regime eulitoral, com suas *Littorina*, suas baratas de praia *Lygia exotica, Patella* sp, e *Fissurella* sp.

Na praia de areia encontramos o pulgão *Orchestoidea brasiliensis* (Dana) que faz furos no solo, com seus 3 mm de diametro, sendo 10 furos por metro quadrado e o carangueijo *Ocypode albicans* "carangueijo da praia" como é conhecido em Saquarema. Linhas do deixa: ha várias marcas de marés mortas ou vivas, e as de marés com vento, as de sizigia, as de equinóxio e de tempestade; em 29 de Junho de 1955, a linha do deixa com detritos jogados pelo mar, estava na altitude 1.5 até 1.6 m entre as plantinhas portulacas de praia *Iresine portulacoides*. Os detritos aqui em Barra Nova, são diversos dos de Itaúna. Aqui ha pedaços de madeira, raros com *Lepas anatifera*, um cirrípede pedunculado, tem de um palmo até 1 2 metro, ha gravetos, pedaços de gramíneas, de asfalto; ha poucas conchas, poucos pedaços de esponjas, poucas algas e raro um pedaço de cactácea *Cereus* sp. Estes detritos vêm de longe, e talvez, trazidos do Rio de Janeiro, como dão testemunho pedaços escritos de papeis, faturas, rótulos, coisas carimbadas que devem vir, provavelmente, do lixo urbano atirado no Cajú. Estes detritos quando húmidos são cheios de pequena multidão de *Orchestoidea* saltando e se enterrando na areia. Nas marés mais fortes a linha do deixa vai alcançar seus 2.5 m de altitude, e os detritos vem junto ao cácto *Cereus* da Estampa II. Nestas marés fortes os detritos tem muitos pedaços de *Iresine, Panicum, Telanthera, Canavalia* arrancados dos vários trechos de litoral que foi solapado. O *Iresinetum portulacoides* desta praia é ora mais, ora menos, castigado pelas vagas.

Em Junho até Agosto de 1955, começava nas distancias de 45 metros, nas altitudes de 1.6 m — 2.3 m (Est. II); a *Iresine portulacoides* que tinha altura media de 10 cm e na distancia de 50 55 metros se entremeava com *Panicum racemosum* esparso, de altura de 15 cm. Cavando-se 20 centimetros neste solo de areia, encontra-se enterrado no fundo o anfípodo *Orchestoidea*; o aspecto é portulacoide, misturado com detritos de maré.

O *Iresinetum portulacoides*: (Seção de 5 m de largura, representado na estampa II) é zonação paralela á praia, desde 45 m até 65 m

de distancia, com seus 20 metros de largura, apresenta as seguintes características ecológicas:

FREQUENCIA

Iresine portulacoides	74%
Stenotaphrum glabrum	1%
Ipomoaea pes-caprae	4%
Telanthera maritima	22%
Fauna — buracos de Ocypode	5%

Dominante *Iresine portulacoides* com 75% de frequencia, e 23.3% de cobertura média.

COBERTURAS

COBERTURAS	X	1	2	3	4	N.º
Iresine portucalacoides	—	10	4	4	2	20
Panicum racemosum	2	4	1	—	—	7
Telanthera maritima	—	9	1	—	—	10
Ipamoea pes-caprae	4	—	—	—	—	4

Coberturas médias:

Iresine portulacoides: $(10 + 4 \times 30 + 4 \times 50 + 2 \times 70) \div 20 = 23.5\%$
Panicum racemosum: $(2 + 4.10 + 1.30) \div 7 = 10.2\%$
Telanthera maritima: $(9 \times 1 + 1 \times 10) \times 0.1 = 1.9\%$
Ipomoea pes-caprae: $4 \div 4 = 1\%$

Zona de talude: o impulso das vagas chegando mais comumente a .2 a 2.3 m de altitude desbarrancou e fez um talude, que era um pouco maior, ora um pouco menor, conforme a consistencia do terreno. No solo de areia pura o talude é grande, como ocorre na praia de Itatinga (I, Est. I) Aquí em Barra Nova devido ao aterro consistente com material conchífero de sambaquís, é de pequena diferença de altitude. Apenas é um degrao de 0.3 a 0.4 m. de desnivel. Esta zona solapada é feita no plano que separa o aterro da areia natural, tem uma extensão de 70 metros, largura de cerca de 2 metros, traz consigo o aspecto de zona de transição, que recebe o vento forte e salpicado de agua do mar pulverisada, diariamente pela noitinha, (as vezes insuportavel vento, que obriga aos habitantes manterem suas janelas fechadas, quasi diariamente pela tarde.)

CARACTERES ECOLÓGICOS:

	Frequência (%)	Cobertura média (%)
Irasine portuclacoides	40	13
Telenthera maritima	90	50
Panicum apressum	100	16
P. racemosum	16	1
Vçrias	5	2

Na parte plana ha um *Panicetum appressum* que tem seus 80 metros de comprimento (26, Est. 1), ha predominancia de areia no terreno, 2.5 m de altitude, tem os caracteres:

	Frequência (%)	Abundancia	Cobertura média (%)
Panicum apressum	100	6	80
Telenthera maritima	81	2	30
Ipomoea pes-caprae	20	x	8
Stenoraphrum	3	x	2
Ipomoea acetosifolia	15	x	5
Vários	1	x	5

Esta zona já está em plena rua Dr. Luiz Januário; na parte do morro que é de terra de sambaquís, misturada com aterro de terra de barreira vermelha encontra-se o aspecto: 75 — 80 m distancia (Est. II) moitas de cactáceas *Cereus* sp (*C. pernambucensis* ?) (fotografia 4) depois uma área com gramíneas, compostas, e várias plantinhas ruderais; tambem a *Telanthera maritima*, a *Euphorbia brasiliensis* até os 4 metros de altitude, formando um tapete não mais alto que 8 a 10 centimetros, feio, meio ressecado, pois sofre muito com o vento, poeira de agua do mar e de areia. Ha de quando em quando uma *Ipomoea pes-caprae*, grama de *Stenotaphrum*. O lado susudoéste e o lado sul do outeiro é notavelmente diferente, pela sua grama muito viçosa, formando um tapete alto, muito verde, e repleto de *Hydrocotyle umbellata* que são aí muito grandes e viçosas, com folhas até de 6 cm de diametro; ha muitas violáceas tambem.

Passeando e observando-se os aspectos fisionômicos da vegetação, notamos muita semelhança entre este paniceto *appressum* que falamos, e o *Panicetum appressum* da praia de Itatinga (21, Est. I). Percebe-se que deveria ter sido antigamente o mesmo; hoje, apenas, devido ao urbanismo, foi interrompido pelas ruas Dr. Januário, Travessa Tamoios, Prof. Coutinho.

As cactáceas (Est. II, 75 — 80 metros) *Cereus* tem 1 metro de altura, são totalmente recobertas pelas *Telanthera maritima* e dentro delas uma piteira *Amaryllidaceae*: *Amaryllis* sp., muito usada como cerca, e como ornamentação nos jardins. Na distancia de 95 metros "Estrada para automoveis".

Descendo para a lagôa (115 — 135 m de distancia Est. II; desde 27 até AM — Est. I) vê-se uma praia natural na lagôa. (Zona 22-23-27-AM Nota AM corresponde a Aguilar Moreira, rua.) A praia toma a direção norte, de 27 até AM, (es. I) tem as seguintes zonas: uma com estenotafro, picões cipós carneirinhos, 2.º um paniceto de beira de lagôa; 3.º um estotafrieto; todos são paralelos à margem da lagôa. Detalhes: distancia de 115 até 125 metros, zona nos terrenos vagos da area triangular 22 da Est. I, zona que foi de areia antes da urbanisação e que era um *Panicetum appressum*, com *Sophora*, com *Acicarpha*. *Euphorbia*, *Panicum racemosum*, que se vê nas ilhotas de areia natural, ainda mantidas puras e originais. Aspecto:

CARACTERES ECOLOGICOS	Frequência	COBERTURA			OCORRÊNCIA	Cobertura média (%)
		x	1	2	N.º	
Acicarpha spatulata	2%		1		3	3.3
Canavalia obtusifolia	15	1	2		3	7
Euphorbia brasiliensis	2	3	1		4	3
Mydrocotyle umbellata	5		1		1	10
Ipomoea acetosifolia	3		1		2	5
Ipomoea pes-caprae	3	1	1		2	10
Panicum appressum	2	1	1		2	5.5
Panicum racemosum	2	2	2		4	5
Remirea maritima	3	2	1		3	4
Sophora tomentosa	6		5		5	10
Stenoraphrum glabrum	53	3	12	3	18	11
Telanthera maritima	4		1		1	10
Ruderais:						
Taracacum officinale	2	1			1	1
Cucurbita sp.	2		2		2	1
Ricinus communis	2		1		1	10
Portulaca sp.	2	1			1	10
Amarantus sp.	2	1			1	1
Outras ruderais	12			2	10	7

O dominante é uma grama comum *Stenotaphrum glabrum*, com frequencia de 53%, cobertura media de 11%, mas, espalhado, ha material que veio com o aterro, misturado no que tinha originalmente — muita mamona, carurú, aboboras, taraxacos, portulacas, picões, etc. A área sudoeste do Saco de Fora (n.º 23 — 24 — AM — Est. I) está cada vez mais raza, tende a desaparecer por aterro, em poucos anos a lagôa perderá estes 6 000 m² de sua superfície com aterros urbanos.

Lixo urbano. — Sobre a questão de lixo urbano lembremos: as margens da lagôa estavam a 30 metros da rua Barão de Saquarema (assim como mostramos em n.º 12 — 13 Est I) Os moradores pouco a pouco jogaram suas latas de lixo doméstico na frente de suas casas na lagôa, como ainda se faz hoje no canto da Rua Aguilar Monteiro AM — Est. I, e da parte n.º 12 para nordeste) Estas e outras circunstancias obrigaram a que se fizesse o atual cais da lagôa a 70 metros das casas da rua Barão de Saquarema (11 — 14, Est. I). O costume de aterrarem justamente o Saco de Fora, no qual se abre a barra da lagôa, deixa a qualquer um prever que, dentro de poucas dezenas de anos, Saquarema terá seu sangrador obstruido, e a lagôa se verá inutilisada como viveiro de peixes e criadouro de camarões. É uso geral, entre nós, aterrar até mesmo onde se deveria dragar, com a finalidade de corrigir um pequeno mal urbano momentâneo. Os aterros depois, mostrarão, em breve futuro, quanto prejudicaram, já que, mesmo sem intervenção humana, ha tendencia ao aterro natural. Se ao aterro natural acrescentam o artificial, é porque de fato querem obstruir a lagôa muito rapidamente.

Na distancia de 130 metros (est. II) são vistas as linhas marginais da lagôa com os seus "lixos d'agua" e as "barbas d'agua": as alfaces de mar "*Ulva* sp.", os "lixo-capim" "*Ruppia maritima*" os "limo-tripa" *Enteromorpha* sp. os limos cabeleiras *Ulothrix* sp., as barbas verdes: outra *Ulothricaceae*, os "lixo-pau" *Cyperaceae*. No mapa Est. II mostramos um espaço de 4 metros, de 126-130 m, onde se depositaram estes "lixos-d'agua". Foi a lagôa que desceu de 1.20 m de altitude para 1.000 m deixou então esta praia húmida com uma pasta esbranquiçada destes limos se decompondo, desde 8 até 20 de Julho de 1955. Já em 1.º de Agosto não havia mais os lixos-d'água, devido ao renovamento de agua do mar: a lagôa passara para o regime de marés.

Antigamente quando a Barra Nova se abria a areia não ia até a altitude de 2 metros (o aterro representado na figura da Est. II de 75 até 120 m, talvez deva ter coberto somente acima da altitude de 2.5 metros.). O mar passava por cima nas grandes marés. Dizem que quando rasgavam o canal de Barra Nova, fazia-se de lagôa para o mar, cortando-se: Gramado natural, depois: *Ruppia, Stenotaphrum,* e depois na areia *Panicetum* até perto do mar: *Iresinetum*.

A desvantagem desta barra foi separar a Igreja da vila, e a violencia da agua solapar os terrenos arenosos (14 — AM Est. I), o que foi melhorado com o aterro de 7000 m² no novo cais (11 — 13 — 14 Est. I); as aguas passavam em regime de duas marés, vazante e enchente, antigamente, e arrastavam parte das terras dos pontos 14 — 22 — 26 — 27 — 31 Est. I. Porque nos séculos passados não urbanizaram outros locais? Porque não deixaram a abertura da lagôa como uma coisa intangivel, em que não se tocasse, para que de futuro não viesse a se entupir? Hoje não se abre barra por esta praia: é anti-economico, anti-urbâno e imprático. Desde o início do seculo XX, a tradição e experiencia dos pescadores do local não aconselharam mais cavar areia nesta barra, no rumo sudoeste, de frente para o vento mais forte. Aliás o que seguiam

era: deixar fazer como a lagôa e o mar "queriam", e no local em que a lagôa "queria", ajudar um pouco com as enxadas.

SEÇÃO II. — CÔMORO DO SIRÍ

(Seção II — Est. I; Seção II, Est. III)

A abertura que se fazia naturalmente, ou que era feita artificialmente, nesta seção fazia a lagôa se esvaziar mais bruscamente, o que talvez tivesse sido indicado algumas vezes.

Quando a lagôa não aceitava escorrer pela Barra Nova, as aguas tomavam caminho e se safavam pelo local que mostramos como seção II. Mas antigamente não havia Côrnoro da areia, este côrnoro apareceu de uns tempos para cá, depois de feitos aterros na Barra Nova, e no cais de Saquarema. O canal que se abria, a 130 m NE do Outeiro de Nazaré, se fazia de NW para SE numa extensão de cerca de 100 metros. Depois de fechada esta barra, sempre se formava, e hoje ainda está lá, um montinho de seus 4 metros de altura formado por areia depositada pelo vento, o "Côrnoro do Sirí" (29, Est. I).

Se alguem fôr ao Côrnoro do Sirí e observar no rumo 320 NW verá o local por onde as aguas escoam, debaixo de duas pontes, 7, 11 Est. I; depois de aberta barra a ilha do meio do Saco, de grama comum, e que neste século tem se formado a 300 metros da ponte e a 100 metros do côrnoro, entrava a se desfazer, solapada pela correnteza, e, no fim de vários dias não era mais encontrada. Se a lagôa estava muito cheia, a barra se abria muito larga, a violencia das aguas era grande, e dava mais de 1000 metros a largura da abertura, além disso muito profunda, o mar penetrava muito impetuoso, causava danos á cidade. As vezes fugia todo peixe que ainda estava na lagôa, o que não se podia conter, e se não entrasse nenhum, haveria uma quadra pobre nas pescarias. Dizem, entretanto, que esta barra toda em areia era bôa para a entrada de camarão. Limpava a lagôa dos limos e dos lixos-d'agua: *Ruppia, Chara, Ulothrix, Cyperaceae, Potamogeton*?, (lixo-capim, lixo-roseta, lixo-peteque, lixo-pau, lixo rabo de raposa, etc.) A lagôa no regime de marés fortes era lavada rapidamente.

Nas descrições de lagunas extrangeiras, em revistas especialisadas, pode-se saber que usaram, muitas vezes, uma lavagem violenta, após mortandades de peixes, para retirar os cadaveres, e retirar tambem o que causou a mortandade.

Quanto ao camarão que tem suas larvas planctonicas, não deverá obedecer a nenhuma escolha de barra, pois entra com a agua, independente de "vontade própria". Dizem "na barra de areia entrava melhor o camarão". Não será por qualquer particularidade de correnteza, redomoinho de agua, que traga exatamente a porção oceânica que contem plancton com *Penaeidae*? Ou, se cavada junto à pedra, não se formará um redomoinho que fará correntezas em outra parte de massa d'agua onde não habita camarão? Ou na ocasião não havia camarão no mar? Enfim: um mundo de problemas. Uma ponderação: entrando maior

volume de agua, entra maior volume de plancton, daí maior probabilidade de mais camarão. Outras barras menos violentas, embora possam apanhar o veio da massa d'agua com larvas de camarão, dão menos camarão, porque colocam menor volume de agua na lagôa.

Uma nota má: se na ocasião de abertura de barra junto ao Cômoro do Sirí, o mar vinha a ficar manso, e um certo vento reinava, a barra se fechava em pouco tempo: horas ou dias. N'uma abertura manual, calcule-se o trabalho perdido, e as esperanças de boas pescarias arruinadas, se a barra se entopia cedo.

Observações ecológicas: SEÇÃO II (Est. III)

Em Julho e Agosto a praia tinha uma aclividade de 1.5%, a linha do deixa de marés mortas, na distancia de 15 metros, altitude 1.9 até 2.1 m, era constituida principalmente por mexilhões, seguritás (*Purpura* sp.), e diferente dos detritos no ponto mais 100 metros a leste, ponto 36 da estampa I, onde os detritos apresentam quantidade grande de conchas partidas de *Pecten, Dosinia, Murex, Strombus,* e vivas as *Donax hanleyanus.* Local dos sernambís e dos tatuís, do ponto 36 para leste.

Estampa III: na distancia de 21 metros da arrebentação média de marés mortas é onde começa o tapete graminoide, após o talude escavado pelas vagas; este talude não existia antes de 8 de Julho, apareceu após a abertura da barra. Antes de 8 de Julho a Praia de Itauna começava logo após as pedras do Outeiro (a areia ligava os pontos 39 até 40 do nosso mapa, estampa I em linha quasi reta). O dominante é o *Panicum racemosum,* distancias 20 — 40 metros, altura média 10 — 15 cm, mas no meio da rampa chega a 50 cm. de altura; rampa inclinada de 4 graos, subindo 4 a 5%.

No quadrado de 20 — 25 metros, vêm-se 3 ilhotas de *Iresine portulacoides,* em hachurado inclinado de 315.º, de 35 metros de distancia começam *Sporobolus,* a amarantacea *Telanthera maritima* entremeadas com *Panicum appressum.* Em 42 metros o cômoro foi desbarrancado, em 8 de Julho, e vê-se a lagôa com sua aguas no nivel 1 metro de altitude, no ponto 45 metros.

O paniceto: em faixa longitudinal, paralela à praia está o *Panicetum racemosum* (Est. III) na areia mais clara.

Caracteres:

FREQUENCIA

Panicum racemosum	100%
Telanthera maritima	1%
Panicum appressum	1%
Sporobolus virginicus ..... menor que	1%

Abundancia: 40 feixes de pânico isolados, por quadrado de 25 m^2, cobertura de 8%.

A zona de seus 50 m², mais elevada, no Cômoro do Sirí, quando vista um pouco de longe, é como uma almofada enroscada de pânicos e alternanteras, como uma carapinha verde; esta zona começando a 35 metros de distancia tem os caracteres:

FREQUENCIA	
Telanthera maritima	95%
Panicum racemosum	92%
Panicum appressum	45%
Remirea maritima	5%

O solo, recoberto pelas telânteras, estava cheio de suas sementes; tinham altura média de 15 cm e máxima de 20 cm., cobertura média de 40%. O pânico racemoso codominante, em igual abundancia, apresentava altura de 15 cm., densidade de 10 tufos por m², tufos com altura média de 40 cm e altura máxima de 70 cm.

Depois do Cômoro seguia, antes de 8 de Julho 1955, um declive suave e numa faixa paralela á praia havia um *Panicetum appressum* do qual resta hoje a porção marcada "Ap" no mapa da estampa I., já meio misturada com *Remirea*.

Ha ilhotas com *Panicum appressum* mais abundante em pequenas faixas longitudinais paralelas á praia, com densidade de 180 tufinhos por metro quadrado, altura média de 10 cm, e cobertura de 20%.

Nos outro locais vê-se:

FREQUENCIA	
Telanthera maritima	21%
Panicum appressum	100%
Remirea maritima	35%

Abundancia: pânico muito abundante, 5 — 12 cm de altura, 150 tufos por metro quadrado, cobertura de 15%. A areia deste paniceto é muito suja por detritos de carvão, moluscos, mas reduzidos a pedaços, todos de menos de 1/2 polegada de tamanho.

SEÇÃO III (III da EST. I; Est. III)

Esta seção mostra o aspecto da lagôa apenas a meio kilometro de distancia da barra, apresentando-se como o de um manguesal de regime mesohalino. Entre os manguesais que descrevemos na Baia de Guanabara, estes de Saquarema se diferenciam por falta de varias associações. O manguesal típico (média ecológica de todos os do Estado do Rio de Janeiro) descrito por Dansereau em 1947, apresenta-se com 3 associações: *Rhizophoretum, Laguncularietum, Avicennietum,* vindas do mar

para a terra. Nestes do Saco da Barra de Saquarema faltam as duas associações anteriores: não ha a camada de arbustos de mangue verdadeiro, e nem tem a de seriúbas, diferindo assim do mangrove típico, e dos mangroves da Baia de Guanabara. Tambem não tem os caranguejos verdadeiros, ou uçás, os *Ucides cordatus,* tão comuns no Rio de Janeiro. Para objetivar a nossa exposição façamos um levantamento, uma seção na área em estudo.

A nossa seção III passa a 10 metros do marco de estrada "Bacaxá 5 Km, Saquarema 250 m" (n.º 2, mapa da Est. I). Segue rumo 160.º SSE, começa na Praia do Yacht Club, depois atravessa a estrada Bacaxá, acaba na ilhota 9, no nordeste do Saco de Fora.

Distancia Zero, Est. III — lagôa a 0.8 m de altitude, oscilando com as marés em Julho de 1955; o quadrado mostra a vegetação de *Ruppia maritima* enraizada e fixa, distancia de 5 — 8 metros: ha um espraiado humido, no qual a lagôa deixou os lixos d'agua, *Ruppia, Ulva,* e fios de *Ulothricaceae* que se decompõem. São carregados para o mar, nos dias de grande maré enchente, na lua cheia. Andam por aí os carangueijos catanhem, no quadrado de 5 até 10 metros mostramos 6 buracos destes crustaceos. Os lixos ficaram por cima de uma zona gramada, com várias gramas de beira de lagôa, e tambem com *Stenotaphrum.*

Distância 6 — 10 metros: Meia dúzia de moitas pequenas de *Iresine portulacoides,* gramíneas, buracos de *Chasmagnathus,* varios *Hydrocotyle umbellata.*

Quando se passa de automovel na estrada marginal da lagôa, que vai até ao Giráo, o carro andando a 15 a 20 kilometros a hora, acompanha-se uma onda de carangueijos que vão se escondendo com o rebrilhar do automovel; a quantidade destes carangueijos é enorme: uns 10 000 catanhens em cada kilômetro de perímetro da lagôa, são inimigos das redes dos pescadores, destroem as redes de espera, são predadores dos moluscos pequenos, peixes e camarões. No quadrilatero 10 — 15 metros da estampa III ha umas 10 especies de plantas ruderais: picões, trapoerabas, suspiros, várias compostas, nascendo neste solo de côr negra. Depois de 15 metros o aspecto é homogêneo, ha uma espécie vegetal, o "capim da moita", cyperaceae *Lagenocarpus* sp., mesma espécie existente na Ilha do Pinheiro (Mem. Inst. Osw. Cruz 51, p. 524, fig. 17, 1953) junto aos buracos dos guaiamús *Cardisoma guanhumi,* altitude 1.1 m. Em 15 de Julho apanhamos este vegetal com flôres, vai entregue ao Prof. Dr. G. Kuhlmann, para determinação deste difícil e especialisadissimo grupo. Altura dos capins 1 m, em moitas, com feixes; cobertura 85%. Depois segue-se o *Acrosticetum aureum* ocupava 20 até 90 metros da nossa seção, que foi cortada pela estrada Bacaxá; de ambos lado da estrada em monticulos de 1.4 m de altitude as *Hydrocotyle umbellata* abundantes, misturadas com *Stenotaphrum* e outras gramíneas.

Distancia: 45 — 53 metros: — 0.90 de altitude, local onde estão caranguejos "chama-maré" *Uca pugnax* entre as *Iresine portucaloides.* Ha numerosissimos guaiamús *Cardisoma guanhumi* junto ao acrosticeto, ao lagenocarpeto: 7 buracos de 10 a 20 centimetros de diametro em cada

quadrilatero de 5 metros quadrados. Poucos e raros *Hibiscus tiliaceus*, nas ilhotas ha a grama *Paspalum evaginatum* e na ultima ilhota do perfil um pé de *Laguncularia racemosa*, uma arvore de mangue.

SEÇÃO IV — Canto do Laguinho (Est. IV, fotografia n.º 3)

Houve tempo em que a barra já foi aberta próximo ao canto do Laguinho, e apresentou vantagens sobre outras. Esvaziava a lagôa fazendo um cotovelo de agua nas ilhotas do nordeste do saco de Fora (Ilhotas 8, 9, 10 Est. I) solapando-as, ao envez de desbarrancar as partes leste do Saco, onde está a cidade de Saquarema. O mar arrancava manguesal e não prejudicaria habitação humana. A prática desta barra hoje é impossivel; o corte está mais longo, o volume de areia a ser removido será da ordem de dezenas de milhares de toneladas.

No tempo antigo, a abertura já tinha sido natural, as margens da lagôa se achavam onde marca "Areia solta" a 80 metros da arrebentação maritima. Hoje os depositos deixados pela lagôa aterraram muito, desde 83 metros até 180 metros, estampa IV. Os fenômenos deveriam ter sido: cresceu em primeiro lugar um paniceto (após as *Iresine* na beira de litoral), este foi sendo substituido por um remirieto, a cada elevação das aguas da lagôa, com agua do mar, o remirieto era molhado por agua salobra, morria, seus detritos adubavam o terreno, que prestava-se para o crescimento da grama de lagôa e várias ciperáceas que toleram agua salobra.

Estampa IV — a 10 metros da linha média de arrebentação em marés mortas, onde está o nivel médio do mar, está a "estação 36" do presente trabalho. (tambem 36, Est. I) Distancias: 15 metros-talude escavado pelas ondas, tendo arrancado um Iresineto; de 15 até 50 metros: o *Panicetum racemosum* que sobe até a altitude de 3.5 m. Neste ponto começa o *Remirietum maritimum* um pouco entremeado com *Panicum*, até os 55 — 70 metros, que passa a ser muito homogêneo.

REMIREAETUM MARITIMUM. — Uma zona bem definida, no mapa da estampa I marcado com linhas hachuradas a 45.º, ocupa uma área de 2500 m² a NE da nossa linha de seção II. Esta zona, destas "Pitazinhas da areia" ocupava 5000 m², mas parte foi levada pelas aguas do canal da barra a partir de 8 de Julho de 1955. Isto é, no mapa da estampa I as estações 18 até 28 formavam uma reta, ou quasi uma linha reta, e os 3600 m² foram solapados pelo entra e sai de agua do mar. A superfície que está hoje, 3900 m² apresenta-se com cobertura muito homogênea, toda ela seguindo ligeira declividade do mar para a lagôa, de 0.6%, começando na altitude de 3.6 m e acabando na altitude de 2.9 m. Estas remíreas, que espetam os pés dos banhistas descalços, apresentam-se como uns tufozinhos de 6 cm² de cobertura, altura média de 10 cm, ou como moitazinhas de altura média de 14-16 cm, dando 50 cm² de sombra, ao sol em iluminação vertical. A abundancia média, em numero real, são 1500 tufos e mais umas 20 moitinhas por metro

quadrado. Este domínio de *Remirea maritima* com cobertura media de 43% e frequencia de 100% apresenta:

FREQUENCIA

Remirea maritima	100%
Panicum racemosum	21%
Telanthera maritima	5%
Sporobolus virginicus	1%

Em abundancia são raros os *Panicum racemosum* raras as *Telanthera* que apresentam-se com cobertura media de 1%, assim como os *Sporobolus virginicus* rarissimos.

COBERTURAS	x	1	2	3	4	n.º	C. média (%)
Remirea maritima			1	14	2	20	43.5
Panicum racemosum		1				1	1
Sporobolus virginicus	0.5						0.4
Telanthera maritima		1				1	1

A fisionomia remiroide, homogênea, muito plana, muito regular, vai diminuindo pouco a pouco até desaparecer e ficar uma faixa de areia solta.

A seção IV — da lagôa para o mar — zona de grama da lagôa, na estação 18: vê-se a lagôa suja pelos lixos d'agua, *Ulva* recobrindo todo o quadrado de 180 — 185 metros. As margens com uma pasta de lixos d'agua de cor castanha, em decomposição, e a *Ulva* já morta e branca. Faixa de lixos — 175-180 metros.

Um espaço hachurado horizontal interrompido — uma das gramas de lagôa, que esperamos ainda colher florida, e assim poder pedir determinação deste dificilimo grupo — *Gramineae* — ao Prof. Dr. G. KULHMANN, a quem agradecemos determinação do material botânico das margens de lagôa, que tem no herbario da Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz.

O quadrado 170 — 175 m: recoberto por *Stenotaphrum glabrum* uma das gramas mais comuns, muito baixa, 5 a 10 cm de altura, em formação cerrada, outra metade do quadrado castanha, com plantinhas mortas pela agua salgada que veio do mar; solo firme e negro; 4 buracos de carangueijos catanhens; 6 plantinhas ruderais (representadas por triangulos).

Distancia — 160 — 170 metros: as ciperaceas *Lagenocarpus*. De 140 a 160 metros *Sporobolus* representados por "Sp," *Cyperus* "Cy"; Taraxacos, Molugos, e várias compostas, rubiaceae, ruderais representadas por um triangulo; em tracejado horizontal interrompido duas es-

pécies de gramineae de beira de lagôa. Esta zonação foi muito prejudicada pelo pisoteio dos pescadores que vendiam tainhas e linguados em Julho a Agosto de 1955 nos arredores de nossa estação 18. Desde 140 metros até a pitangueira ha um terreno com areia solta que a remirea procura invadir.

Finalmente, expusemos as associações nos locais onde abriram barra: a Barra Nova, que se abria naturalmente foi a que deu muito peixe á lagôa, e é a que os velhos dizem ter saudades; aterrada esta, apareceram outras, cada qual com suas vantagens e inconveniencias, mas outros aterros trouxeram modificações que influiram nestas outras barras. As barras artificiais não permanecem abertas suficientemente, a lagôa vai sendo aterrada e vai perdendo muito de sua capacidade de renovamento por agua por mar.

BIBLIOGRAFIA

Dansereau, P., 1947, Zonation et sucession sur la restinga de Rio de Janeiro. I Halosère. *Rev. Can. Biologie,* VI (3) 448-447. Montreal.

Faria, & E. Magalhães, 1939, A Lagôa de Saquarema. *Bol. Min. Agric.* Serviço de Caça e Pesca. — Julho-Setembro 1939. 23 p.

Lamego, A. R., 1945, Ciclo evolutivo das lagunas fluminenses. *Bol. Div. Geol. Min.* Ministerio da Agricultura. 96, 1-73. Rio de Janeiro.

Magnanini, A., 1954, Contribuição ao estudo das zonas de vegetação da Praia de Sernambetiba. *Arquiv. Serv. Florestal,* 8, 147-232.

Oliveira, L. de & L. Krau, 1953, Levantamento biogeografico da Baia de Guanabara. II — Crescimento de manguesal na Ilha do Pinheiro. *Mem. Inst. Osw. Cruz,* 51, 503-524.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Dr. J. Geraldo Kuhlmann, a determinação do material botânico, colhido em margens de lagôas, existente na Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz; e ao Dr. Alceo Magnanini herbário de plantas da praia de Sernambetiba.

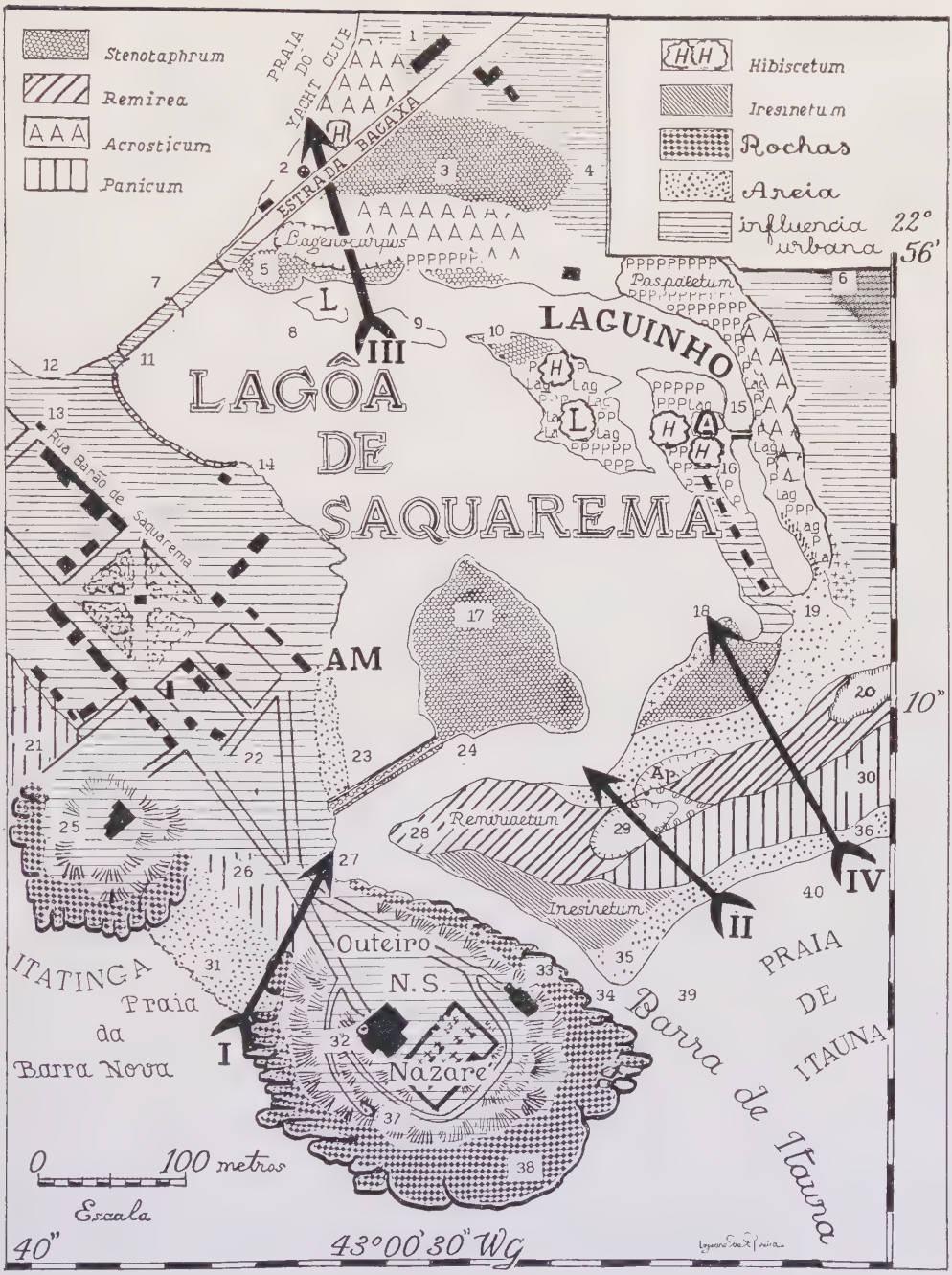
EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampas I a IV. — Levantadas e desenhadas por LEJEUNE DE OLIVEIRA. Estampa V. Fotografias: n.º 1 — Abrindo a barra de Saquarema em Itaúna, no mez de Junho de 1955. Cavam um *Iresinetum*. 2. — A barra aberta em 8 de Julho.

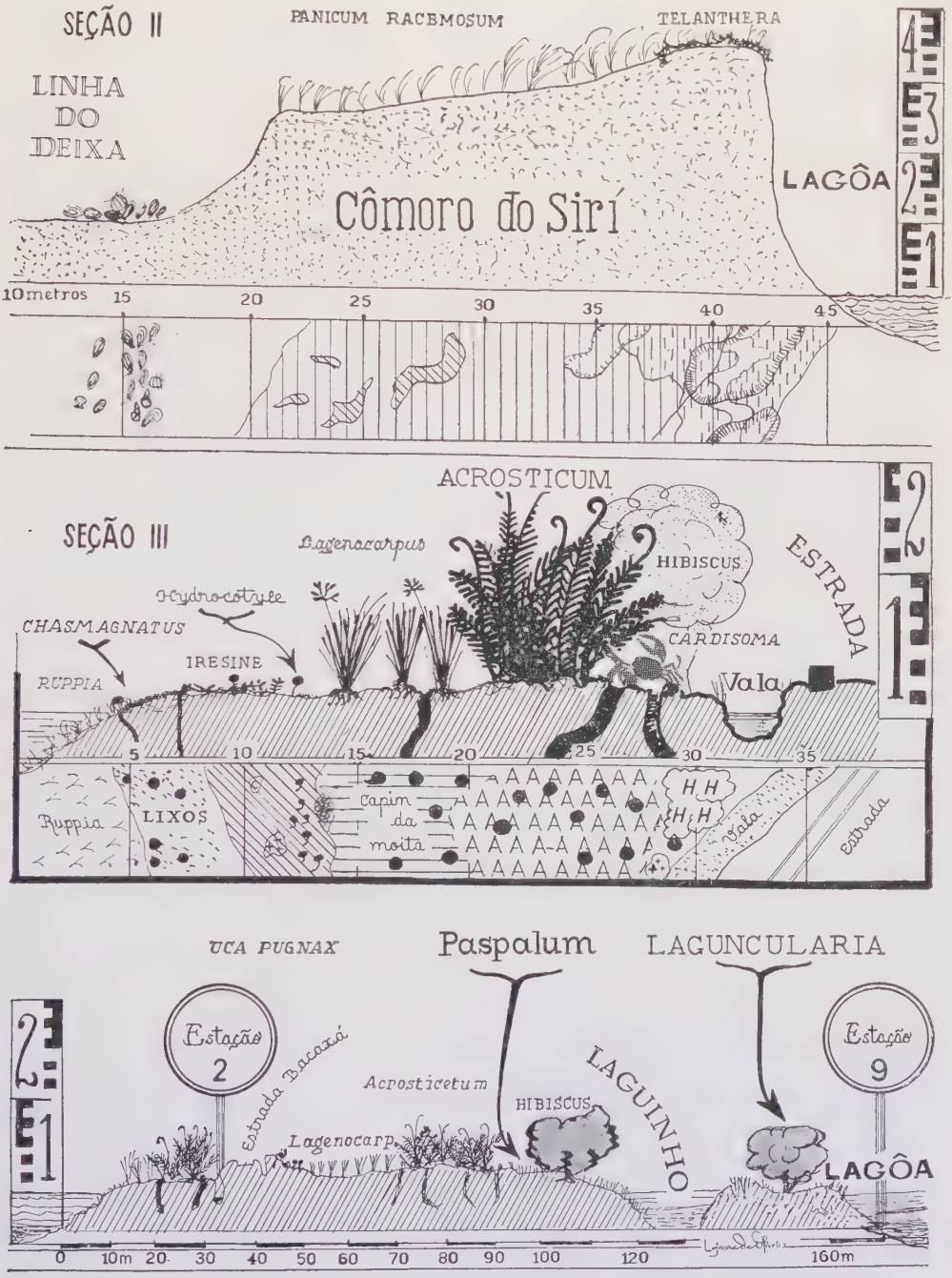
Estampa VI: Fotografia 3. — Canto do Laguinho. — 4. — Barra Nova.

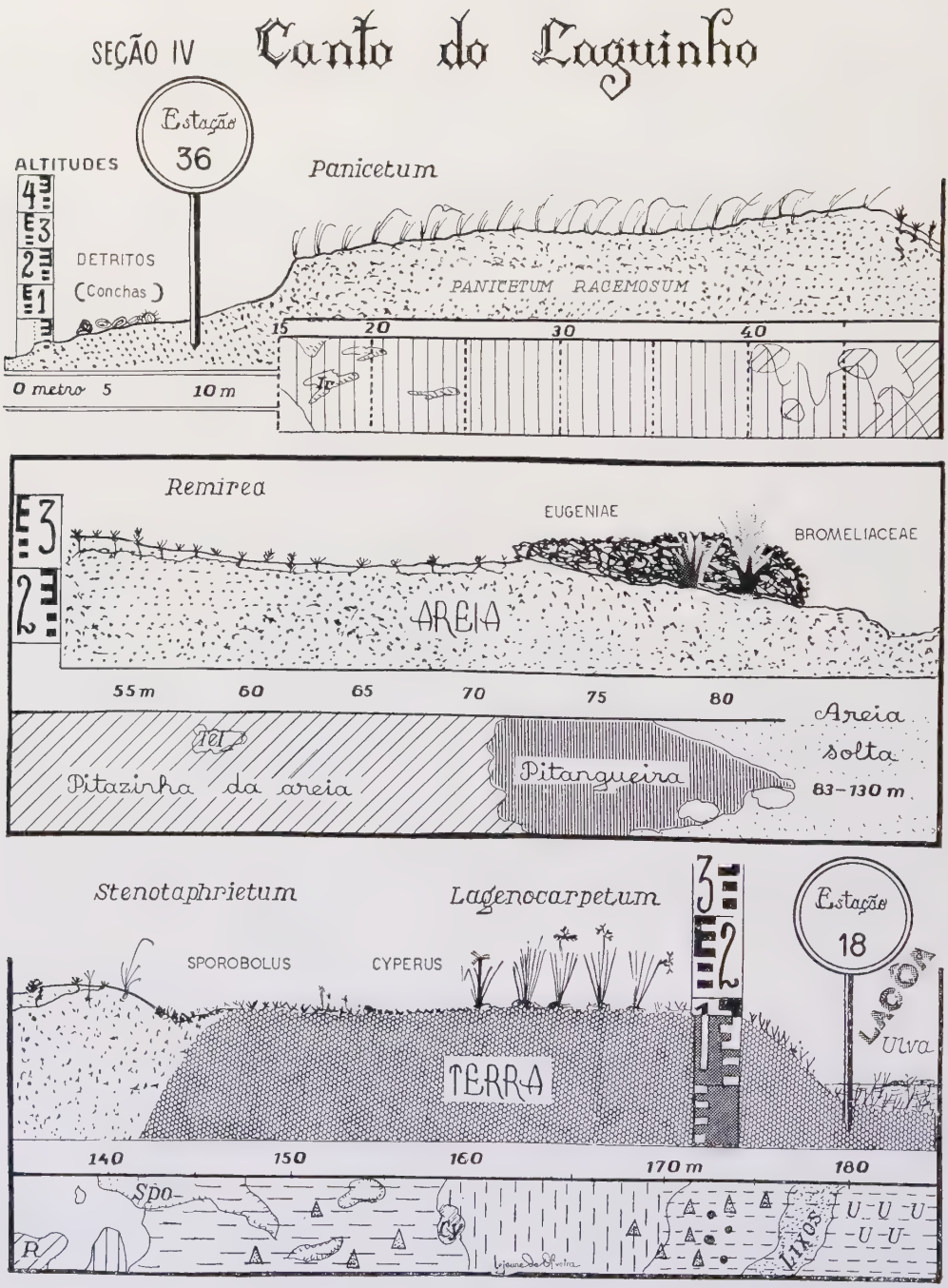
Nota: Os números nas fotografias correspondem às estações marcadas no mapa e nas seções.

ESTAMPA I


Stenotaphrum
Remirea
Acrosticum
Panicum
Hibiscetum
Inesinetum
Rochas
Areia
Influencia urbana
PRAIA DO YACHT CLUBE
ESTRADA DA BACAXA
Lageno-carpus
Paspaletum
LAGUINHO
LAGÔA DE SAQUAREMA
Rua Barão de Saquarema
AM
Remirietum
Inesinetum
Outeiro
N.S. Nazare
ITATINGA
Praia da Barra Nova
PRAIA DE ITAUNA
Barra de Itauna
I
II
III
IV
0 100 metros
Escala
22° 56'
10"
40"
43°00'30" Wg

SEÇÃO I
PERFIL
PLANTA
OCEANO
Esponjas
Mexilhões
Feofíceas
Cladóforas
Caracas
ROCHA
NIVEL MÉDIO DO MAR
0
0.5 m
E1
0
5m
10
15
20metros
Spongiae
Mytilus
Balanus
Chthamalus
BARRA NOVA
Fissurella
Littorina
Lygia
ALTITUDES
E3
E2
E1
Orchestoidea
Ocypode
Detritos
Iresinetum
Linha
do
Deixa
AREIA
BURACOS
DE
CRUSTACEA:
Amphipoda
Ocypode
25metros
30
35
40
45
50
55
Lepas
Panicum appressum
Telanthera
CEREUS
Ipomoea pescaprae
GRAMINAE, ruderal
AREIA
ATERRO
RUA
65m
70
75
80
85
90
Cereus
Ip.
p.
Sophora
Ipomoea
acetosaefolia
ESTAÇÃO
23
Panicum
racemosum
ULVA
Stenotaphrum
Terra
LAGÔA
115
120
125
130m
Ba
La
Le
Bacc


SEÇÃO II
PANICUM RACEMOSUM
TELANTHERA
LINHA DO DEIXA
LAGÔA
Cômoro do Sirí
10metros
15
20
25
30
35
40
45
SEÇÃO III
ACROSTICUM
Lagenocarpus
HIBISCUS
ESTRADA
Hydrocotyle
CHASMAGNATUS
IRESINE
CARDISOMA
RUPPIA
Vala
Capim da moita
LIXOS
Ruppia
vala
estrada
UCA PUGNAX
Paspalum
LAGUNCULARIA
Estação 2
Estação 9
Estrada Bacaxá
Acrosticetum
HIBISCUS
LAGUINHO
Lagenocarp
LAGÔA
0
10m
20
30
40
50
60
70
80
90
100
120
160m


SEÇÃO IV
Canto do Caguinho
Estação 36
ALTITUDES
4
3
2
1
DETRITOS
(Conchas)
Panicetum
PANICETUM RACEMOSUM
15
20
30
40
0 metro
5
10 m
Remirea
EUGENIAE
BROMELIACEAE
AREIA
55 m
60
65
70
75
80
Areia solta
83–130 m
Tel
Pitazinha da areia
Pitangueira
Stenotaphrietum
Lagenocarpetum
SPOROBOLUS
CYPERUS
TERRA
Estação 18
LAGOA
Ulva
140
150
160
170 m
180
Spo
R
Cy
U U U
U U
LIXOS

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 53 (2-4), 1955

Fotografia 3

Fotografia 4

Variações mensais da incidência das formas evolutivas do Triatoma Infestans e do Panstrongylus Megistus no Município de Bambuí, Estado de Minas Gerais

por
Emanuel Dias *

Desde o início do funcionamento do *Centro de Estudos e Profilaxia da Doença de Chagas*, que organizamos em 1943 por ordem do Professor Henrique de Beaurepaire Rohan Aragão — a quem temos a honra de homenagear na presente oportunidade — temos dado conta, em diversas publicações (1-6), dos resultados de capturas de triatomíneos alí efetuadas. Entretanto, nenhuma informação foi dada em relação às variações da freqüência das diversas formas evolutivas desses hematófagos no correr do ano, assunto sôbre o qual não conhecemos dados precisos sôbre quaisquer das espécies vectoras do *Schizotrypanum cruzi*.

Iniciamos o presente trabalho pelo relato do que apuramos a respeito do *Triatoma infestans* e do *Panstrongylus megistus* no periodo de sete anos, de 1944 a 1950, no municipio de Bambui, onde são estes os únicos transmissores provados da esquizotripanose.

Conforme já se sabia de trabalhos precedentes, é o *T. infestans* a espécie predominante. Na vigência do aludido período foram coletados 122814 exemplares de *T. infestans* e 7961 de *P. megistus*, que provieram, em grande parte, de capturas efetuadas mediante expurgos com pó Fly Tox feitos nas cafuas dos arredores da cidade de Bambui. Em 6731 capturas foram apanhados especimens de *T. infestans* e em 1103 capturas havia sòmente exemplares de *P. megistus*; ambas as espécies, se mostraram associadas em 843 capturas. Os resultados destas acham-se anotados em fichas adequadas (cf. Dias, 1945), o que torna possível a apuração segundo o estadio evolutivo dos triatomíneos e o sexo dos exemplares adultos.

No quadro 1 figuram as percentagens de adultos (machos e femeas) e jovens (larvas e ninfas), de *T. infestans*, observadas em cada mês, bem como o número total de insetos, de capturas e a média de insetos por captura. No quadro 2 figuram os mesmos dados, relativos ao *P. megistus*, durante o mesmo periodo de 1944 a 1950.

* Chefe da Secção de Inquéritos e Trabalhos de Campo, Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz; Chefe do Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstias de Chagas IOC; Bambuí, Minas Gerais.

QUADRO 1

Variações das percentagens mensais acumuladas das formas evolutivas de T. Infestans, observadas no período de 1944 a 1950

MES	Total barbeiros	ADULTOS			JOVENS			Total capturas	Barbeiros capturas
		Total	Masculino	Feminino	Total	Ninfas	Larvas		
Janeiro	13 776	21,5	10,9	10,6	78,5	27,2	51,3	1 116	12,3
Fevereiro	7 594	24,0	9,6	14,4	76,0	28,9	47,1	662	11,0
Março	13 570	30,9	15,3	15,6	69,1	27,3	41,8	767	17,6
Abril	7 665	30,6	13,8	16,8	69,4	26,4	43,0	435	17,0
Maio	9 128	26,9	11,4	15,5	73,1	27,0	46,1	400	22,8
Junho	5 834	33,7	17,1	16,6	66,3	27,8	38,5	351	16,6
Julho	7 528	r0,0	18,8	21,2	60,0	24,4	35,6	343	21,9
Agôsto	14 283	38,3	19,5	18,8	61,7	21,1	40,6	583	24,4
Setembro	12 886	31,1	14,8	16,3	58,9	18,8	50,1	770	16,6
Outubro	12 925	23,7	11,9	11,8	76,3	15,7	60,6	795	16,2
Novembro	7 304	19,0	9,3	9,7	81,0	16,7	64,3	584	12,5
Dezembro	10 341	15,4	7,6	7,8	84,6	22,1	62,5	768	13,3
SOMA	122 814	28,0	13,5	14,5	72,0	23,2	48,8	7 574	16,2

QUADRO 2

Variações das percentagens mensais acumuladas das formas evolutivas de P. Megistus, observadas no período de 1944 a 1950

MES	Total barbeiros	ADULTOS			Jovens			Total capturas	Barbeiros capturas
		Total	Masculino	Feminino	Total	Ninfas	Larvas		
Janeiro	587	55,0	20,3	34,7	45,0	12,5	32,5	233	2,5
Fevereiro	540	30,2	11,3	18,9	69,8	18,5	51,3	139	3,8
Março	848	21,0	7,2	13,8	79,0	28,2	50,8	184	r,6
Abril	1 074	13,5	3,4	10,1	86,5	26,7	59,8	154	6,9
Maio	477	27,5	5,5	22,0	72,5	43,2	29,3	122	3,8
Junho	460	19,5	4,3	15,2	80,5	35,2	45,0	95	4,8
Julho	596	12,9	2,0	10,9	87,1	45,3	41,9	92	6,4
Agôsto	532	35,5	17,7	17,8	64,5	36,6	27,9	117	4,5
Setembro	586	51,3	35,3	16,0	48,7	34,0	14,7	169	3,4
Outubro	908	71,6	38,0	33,6	20,8	7,6	7,6	268	3,3
Novembro	623	72,5	33,9	39,0	27,4	13,0	14,4	185	3,3
Dezembro	730	65,5	29,4	36,1	34,5	9,5	25,0	188	3,8
SOMA	7 961	39,9	17,7	22,2	26,1	34,0	34,0	1 946	4,1

PERCENTAGENS MENSAIS DE ADULTOS E JOVENS, CORRESPONDENTES AOS ANOS DE 1944 A 1950

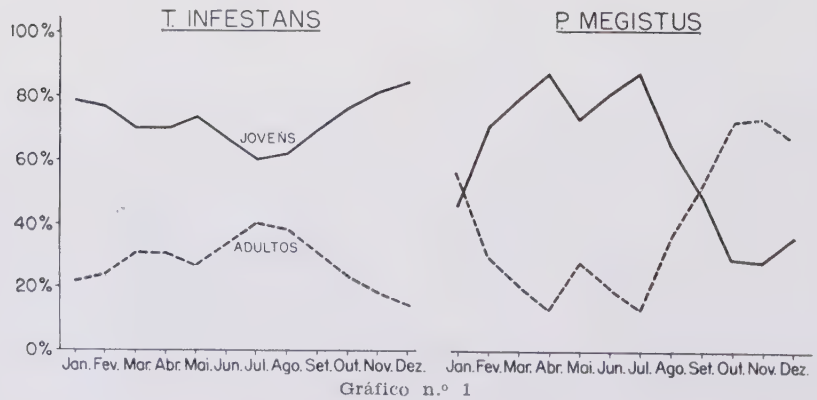


Gráfico n.º 1

VARIAÇÕES MENSAIS DAS PERCENTAGENS DE ADULTOS, NINFAS E LARVAS DE T. INFESTANS E P. MEGISTUS 1944-1950

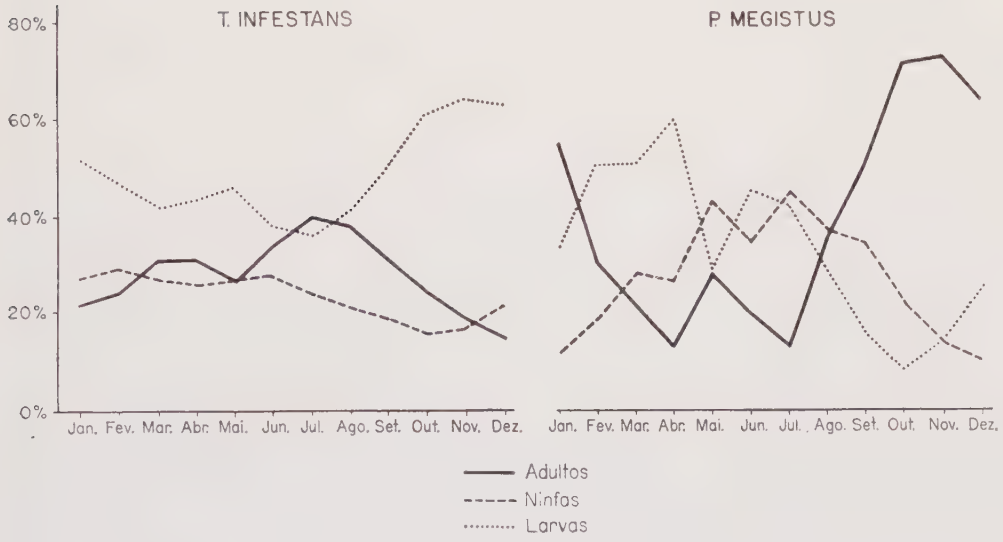


Gráfico n.º 2

VARIAÇÕES MENSAIS DAS PERCENTAGENS DAS DIVERSAS FASES EVOLUTIVAS, DURANTE O PERÍODO DE 1944 A 1950

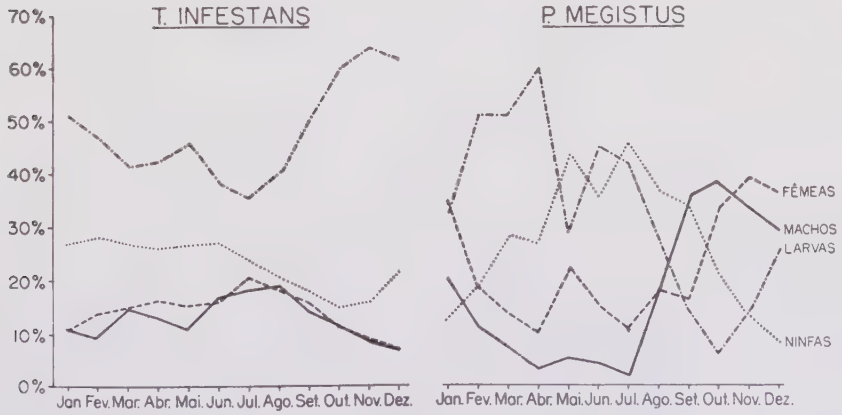


Gráfico n.º 3

Os gráficos 1, 2 e 3 ilustram os resultados contidos nos quadros 1 e 2.

Afim de apreciar a constância das variações observadas em cada espécie, comparámos os dados obtidos isoladamente em 4 dos anos em que foram mais numerosos os insetos recolhidos; devido à disparidade das amostras disponíveis para análise, deixámos de fazer o mesmo em todos os anos do septênio.

Nos quadros 3 e 4 figuram, respectivamente para *T. infestans* e *P. megistus*, as percentagens mensais de adultos e jóvens, bem como os totais de insétos capturados em cada mês, em cada um dos 4 anos escolhidos. A estes quadros correspondem os gráficos n.º 4 e 5.

QUADRO 3

T. Infestans — Percentagens de formas adultas e jovens, observadas nos anos de 1950, 1945, 1948 e 1944

MES	1950			1945			1948			1944		
	N.º de insetos	% adultos	% jovens	N.º de insetos	% adultos	% jovens	N.º de insetos	% adultos	% jovens	N.º de insetos	% adultos	% jovens
Janeiro	201	32	68	6 048	19	81	4 047	29	71	755	28	72
Fevereiro	149	31	69	2 828	32	68	268	36	64	774	30	70
Março	3 270	33	67	3 440	25	75	874	41	59	1 203	31	69
Abril	1 642	30	70	3 645	28	72	503	29	71	232	31	69
Maio	216	31	69	1 702	29	71	1 956	16	84	542	34	66
Junho	2 016	41	59	649	23	77	413	27	73	534	31	69
Julho	4 366	48	52	500	27	73	894	24	76	722	36	64
Agôsto	7 940	45	55	1 474	27	73	2 208	25	75	625	48	52
Setembro	1 837	34	66	627	31	69	3 348	16	84	2 728	36	64
Outubro	2 328	24	76	1 619	22	78	1 923	21	79	3 641	24	76
Novembro	1 167	19	81	1 388	14	86	1 097	18	82	1 930	23	77
Dezembro	2 231	12	88	1 711	12	88	1 350	23	77	3 606	16	84
SOMA	**27 363**	**36**	**64**	**25 631**	**23**	**77**	**18 881**	**23**	**77**	**17 292**	**27**	**73**

QUADRO 4

P. Megistus — **Percentagens mensais de formas adultas e jovens observadas nos anos de 1945, 1944, 1946 e 1947**

MES	1945			1944			1946			1947		
	N.º de insetos	% adultos	% jovens	N.º de insetos	% adultos	% jovens	N.º de insetos	% adultos	% jovens	N.º de insetos	% adultos	% jovens
Janeiro	163	59	41	132	50	50	136	46	54	38	55	45
Fevereiro	239	26	74	85	35	65	51	37	63	32	34	66
Março	114	25	75	228	17	83	161	12	88	94	30	70
Abril	544	6	94	68	25	75	310	13	87	32	22	78
Maio	51	33	67	109	34	66	128	23	77	33	15	85
Junho	90	9	91	79	24	76	104	19	81	86	29	71
Julho	129	4	96	63	16	84	29	7	93	118	15	85
Agôsto	32	41	59	253	41	59	50	34	66	26	19	81
Setembro	35	83	17	167	56	44	55	62	38	17	82	18
Outubro	93	84	16	193	79	21	174	91	9	117	81	19
Novembro	126	62	31	117	76	24	76	71	29	112	92	8
Dezembro	343	73	27	112	76	24	140	45	55	47	64	36
SOMA	**1 959**	**36**	**64**	**1 606**	**46**	**54**	**1 387**	**36**	**64**	**752**	**48**	**52**

Em seguida à obtenção dos dados acima expostos, resolvemos analisar separadamente as capturas de cada espécie feitas na zona rural do município e na periferia da cidade de Bambuí, em vista dos numerosos e repetidos expurgos que haviam sido feitos nas habitações suburbanas, que deveriam influir nos resultados. A análise das capturas da zona rural deve fornecer resultados mais representativos da realidade; porquanto nessa zona os barbeiros foram obtidos por meio de expurgos isolados e quasi nunca reiteradamente repetidos.

Servimo-nos, para isto, de um total de 147826 triatomineos capturados de novembro de 1943 a dezembro de 1953, dos quais 138905 eram *T. infestans* (94%) e 8921 eram *P. megistus* (6,0%). Em 6917 capturas efetuadas na cidade, 5622 proporcionaram *T. infestans* (81,0%), 829 sòmente *P. megistus* (12,0%) e 466 ambas as espécies (7,0%); na zona rural, 2417 capturas forneceram respectivamente 68% e 15% das referidas espécies isoladas e 17% associadas. Na periferia da cidade foram apanhados 69219 barbeiros (média de 10 por captura), sendo 64509 (93,0%) *T. infestans* (9,3 por captura) e 4710 (7,0%) *P. megistus* (0,7 por captura); na zona rural foram apanhados 78607 barbeiros (32,5 por captura), sendo 74396 (94,6%) *T. infestans* (30,8 por captura) e 4211 (5,4%), *P. megistus* (1,7 por captura).

Os dados relativos às percentagens mensais de adultos, ninfas, e larvas de *T. infestans* durante o referido período acham-se no quadro n.º 5, na zona rural e na zona suburbana; no quadro 6 acham-se os mesmos dados relativos ao *P. megistus*. Os resultados para ambas as espécies são esquematizados no gráfico n.º 6.

QUADRO 5

T. Infestans — **Variações das percentagens mensais acumuladas de adultos, Ninfas e Larvas na zona rural e suburbana de Bambuí — Novembro 1943 a Dezembro de 1953**

MES	ZONA RURAL				ZONA SUBURBANA			
	Total insetos	% adultos	% ninfas	% larvas	Total insetos	% adultos	% ninfas	% larvas
Janeiro	7 345	26,1	25,6	48,3	8 185	19,7	31,7	48,6
Fevereiro	2 532	28,1	33,8	38,1	5 905	27,3	25,5	47.2
Março	4 925	35,1	33,5	31,4	11 101	30,3	24,1	45,6
Abril	1 355	45,6	33,6	20,8	4 787	27,0	24,3	48,7
Maio	8 168	34,4	32,1	33,5	4 853	20,2	26,7	53,1
Junho	5 196	31,1	31,7	34,2	2 542	24,7	25,8	49,5
Julho	5 736	45,6	25,8	28,6	1 819	23,2	20,1	56,7
Agôsto	10 556	42,3	22,4	35,3	4 109	29,7	18,0	52,3
Setembro	9 094	31,1	18,8	50,1	4 510	30,2	19,2	50,6
Outubro	9 391	23,0	17,2	59,8	5 700	24,3	13,7	62,0
Novembro	3 844	18,7	13,1	68,2	5091	17,1	18,3	64,6
Dezembro	6 524	15,7	18,7	65,6	5 907	14,9	19,5	65,6
SOMA	74 396	31,4	24,1	44,5	64 509	24,2	22,8	53,0

QUADRO 6

P. Megistus — **Variações das percentagens mensais acumuladas de adultos, Ninfas e Larvas na zona rural e suburbana de Bambuí — Novembro de 1943 a Dezembro de 1953**

MES	ZONA RURAL				ZONA SUBURBANA			
	Total insetos	% adultos	% ninfas	% larvas	Total insetos	% adultos	% ninfas	% larvas
Janeiro	301	53,8	10,0	36,2	364	50,0	14,6	35,4
Fevereiro	260	32,3	23,8	43,9	338	29,9	17,7	52,4
Março	483	24,6	27,3	48,1	300	25,3	23,7	51,0
Abril	501	16,0	39,9	44,1	572	10,5	23,9	65,6
Maio	246	21,5	38,2	40,3	147	37,5	36,7	25,8
Junho	213	23,5	41,8	34,7	269	14,9	36,8	48,3
Julho	387	12,1	53,5	34,4	288	10,4	46,2	43,4
Agôsto	172	29,7	47,1	23,2	386	17,9	50,0	32,1
Setembro	441	44,2	43,3	12,5	183	69,4	16,9	13,7
Outubro	543	72,2	21,0	6,8	481	70,3	21,4	8,3
Novembro	266	84,2	10,5	5,3	1 074	50,5	33,8	15,7
Dezembro	398	63,8	8,3	27,9	308	77,9	12,4	9,7
SOMA	4 211	40,6	29,9	29,5	4 710	39,5	28,3	32,2

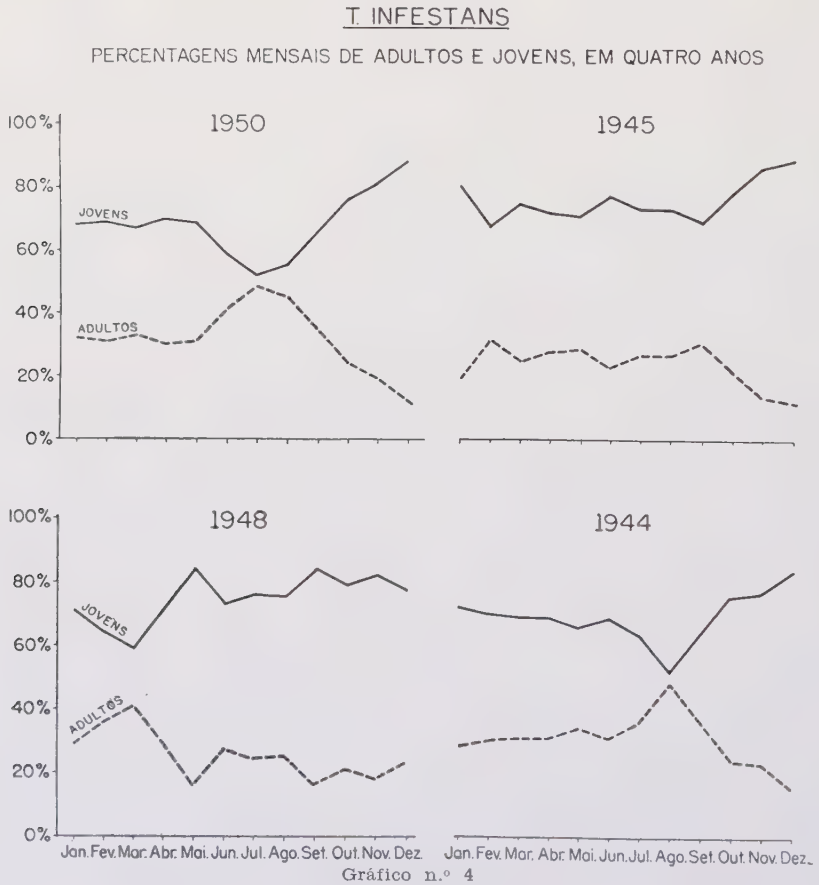


Gráfico n.º 4

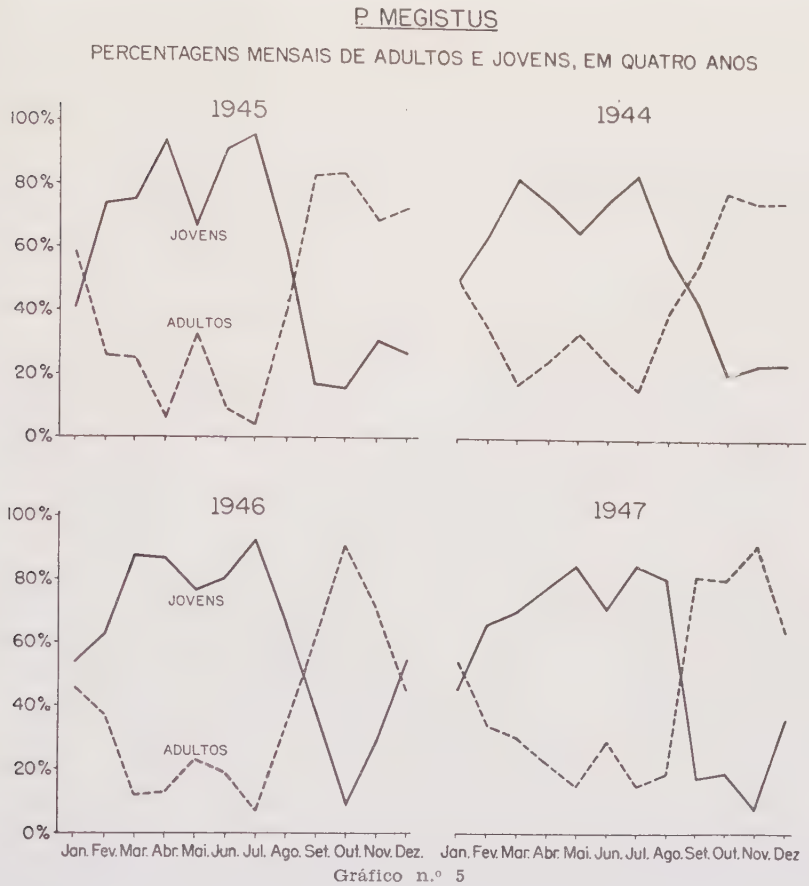


Gráfico n.º 5

DISCUSSÃO

É esta, aparentemente, a primeira comunicação a respeito do estudo das variações mensais das diversas fases evolutivas de triatomíneos na natureza. Os resultados, obtidos da análise de amostras representativas e colhidas numa mesma região durante um tempo bastante longo, prestam-se a considerações interessantes sob múltiplos aspectos.

Havendo considerado como mais representativas da realidade as amostras obtidas da zona rural do município, cujos domicílios, como se disse, não foram submetidos a aplicações repetidas de inseticidas que haveriam de influir nos resultados, vamos basear as considerações que se séguem em primeiro lugar nos dados fornecidos pelas capturas feitas na zona rural (Quadros 5-6, gráfico 6).

Em relação ao *P. megistus*, verifica-se que o período de nítida prevalência das formas adultas é de 4 mêses, de outubro (72,2%) a janeiro (53,8%), período êsse que coincide naturalmente com a época das pos-

turas mais abundantes. Observou-se a incidência mínima de formas aladas no mês de julho (12,1%), a partir do qual suas percentagens começaram a subir rapidamente para atingir seu máximo (84,2%) em novembro, isto é 4 mêses mais tarde. As percentagens de fêmeas foram em regra um pouco superiores á dos machos. Em dezembro, a linha correspondente aos percentuais de adultos cái sensivelmente, em razão do aparecimento de grande número de larvas. As percentagens destas formas depressa sóbem e, partindo de um mínimo de 5,3% em novembro, alcançam o máximo de 48,1% em março (4 mêses); daí por diante elas vão baixando paulatinamente, até novamente ao mínimo em novembro; o período de prevalência das larvas vai de fevereiro (43,9%) a maio (40,3%). A transformação de "larvas" em "ninfas" (4.ª muda) determina a ascenção das percentagens destas, que do mínimo de 8,3% em dezembro vão ao máximo de 53,5% em julho. As mais altas incidências das formas ninfais verificam-se entre junho (41,8%) e setembro (43,3%).

Assim, na região de Bambuí a evolução do *P. megistus* parece ocorrer regularmente e em três períodos anuais de 4 mêses, correspondentes respectivamente a cada uma das formas evolutivas, conforme se vê também pelo seguinte arranjo dos dados obtidos na zona rural:

PERÍODO	Total insetos	ADULTOS		LARVAS		NINFAS	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%
Outubro-janeiro	1 508	1 032	68	271	18	205	14
Fevereiro-maio	1 490	336	23	666	44	488	33
Junho-setembro	1 213	343	28	302	25	568	47
SOMA	4 211	1 711	41	1 239	29	1 261	30

Relativamente ao *T. infestans*: as maiores percentagens de adultos foram observadas, na zona rural, no período compreendido entre abril (45,6%) e agosto (42,3%), apresentando a curva 2 ápices, em abril e julho; a incidência mínima de adultos verificou-se em dezembro (15,7%), sendo sempre bastante aproximadas as percentagens de machos e fêmeas. O mínimo observado de larvas (20,8%) situou-se em abril, em coincidência com o primeiro ápice da linha de adultos; a ascenção das percentagens de larvas em maio e junho acarretou a baixa proporcional de insétos adultos, sendo digno de nota que nêsse período as percentagens de larvas, ninfas e adultos são muito aproximadas, quando não idênticas. É a partir de julho que entra a linha dos percentuais de larvas em ascenção decisiva, que vai de 28,6% em julho aos máximos de 68,2% e 65,6% em novembro e dezembro. Assim, no período compreendido entre setembro (50,1%) e fevereiro (38,1%) observou-se o predomínio das formas larvarias sôbre as ninfais e aladas. Parece que em todos os mêses há, porém, produção de larvas, cujo mínimo não caiu nunca abaixo de 20%. As variações das percentagens de ninfas sofreram relativamente poucas oscilações no decorrer do ano, entre 13,1% em

novembro e 34% em fevereiro a abril, parecendo ser devido este equilíbrio à formação de novas ninfas, que compensam aquelas que se vão transformando em formas adultas.

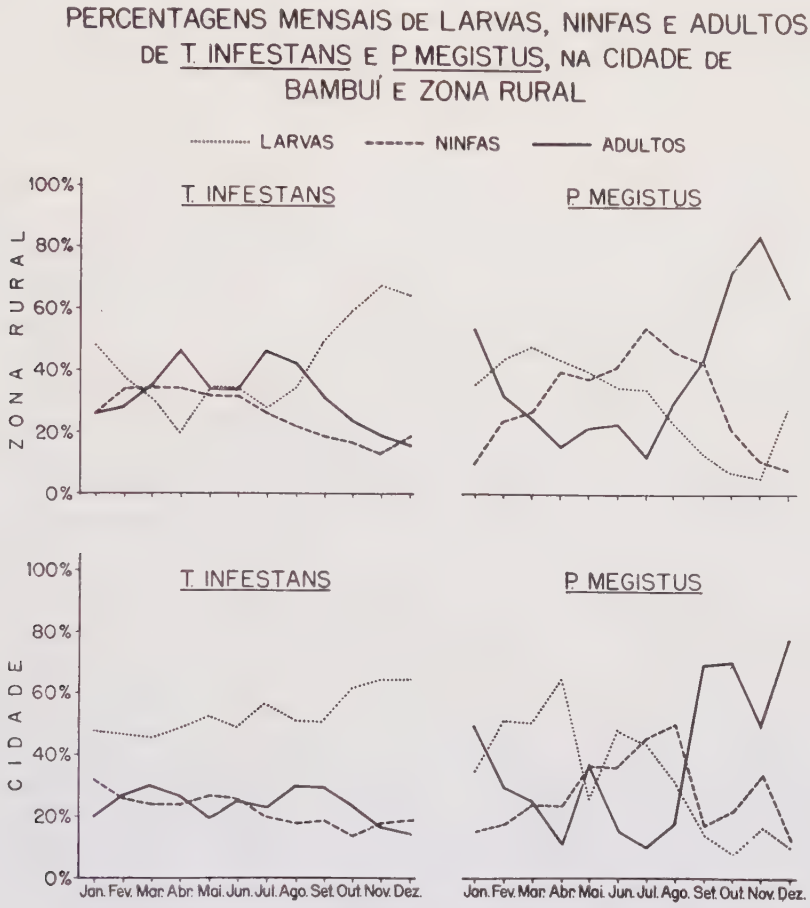


Gráfico n.º 6

Pela inspeção dos gráficos ilustrativos das variações mensais das percentagens de formas adultas e de formas jovens (n.º 1, 4 e 5), verifica-se que no *T. infestans* não ocorreu o cruzamento das respectivas linhas, que aconteceu constantemente no caso do *P. megistus* e graças ao qual adquirem suas curvas um aspecto constante e característico. O fato pode ser explicado pelo aparecimento de novos contingentes de larvas de *T. infestans* durante todo o ano, se bem que haja épocas preferenciais, e parece indicar que na região de Bambuí, a espécie apresenta mais de uma geração anual, enquanto que o *P. megistus* parece apresentar apenas uma. Estamos procurando esclarecer com segurança este particular, não só pela obtenção de novos dados e de análise mais deta-

lhada dos presentes, como pela combinação dêles com o que se observa nas criações de laboratório, feitas não só a partir de ovos, como também de larvas e de ninfas recolhidas na natureza em cada um dos mêses do ano.

Nos quadros 7 e 8 damos informações comparativas entre o que se apurou em relação ao *T. infestans* e o *P. megistus* na zona rural de Bambuí.

QUADRO 7

Época de ocurrência e intervalo entre as incidências mínima e máxima de cada uma das formas de evolução

FASES	T. INFESTANS					P. MEGISTUS				
	Mínima		Máxima		N.º de meses	Mínima		Máxima		N.º de meses
	%	Mês	%	Mês		%	Mês	%	Mês	
Adultos	1,57	dezembro	45,6	abr./julº.	4–7	12,1	Julho	84,2	nov.	4
Larva	20,8	abr.	68,2	nóvembro	7	5,3	novembro	48,1	março	4
Ninfa	13,1	novembro	34,0	fev./abr.	3 5	8,3	dezembro	53,5	julho	7

QUADRO 8

Época do Ano...

FASES	T. INFESTANS		P. MEGISTUS	
	Meses	%	Meses	%
Adultos	Abril-agôsto (5 meses)....	46–42	Outubro-janeiro (4 meses)	72–54
Larvas	Setembro-janeiro (5 meses)	50–38	Fevereiro-maio (4 meses)..	44–40
Ninfa	Fevereiro-julho (5 meses)..	34–32	Junho-setembro (4 meses)	42–43

Em geral os autores têm se baseado em observações feitas no laboratório para calcular o tempo de evolução completa dos triatomíneos, mas, como é óbvio, êste critério deve ser acolhido com reservas, porquanto nunca se poderá afirmar, a rigor, que se passarão da mesma forma, na natureza, fatos verificados nas condições sempre artificiais de laboratório. Basta que se considere a variabilidade tanto destas condições como daquelas em que vivem os insétos nos diferentes ambientes naturais, para que se façam sempre restrições a semelhantes generalizações.

Segundo Neiva (1913) o *T. infestans* evolui de ovo a adulto num prazo médio de 220 a 240 dias no laboratório, "mas na vida livre o desenvolvimento se deve completar em um ano, porquanto os insetos alados só são encontrados em determinados mêses".

Em outro trabalho, Neiva (1914), após fornecer dados sôbre a evolução artificial dos triatomas, diz acreditar que nas condições naturais "o desenvolvimento se efetue mais ou menos no espaço de 8 meses; no Brasil os adultos de todas as espécies começam a aparecer em setembro; aos poucos, o número vai aumentando e em janeiro, ao ser examinada uma casa infestada por triatomas só por exceção se encontrarão larvas; os exemplares presentes estão no estadio ninfal ou então adultos; para os meados do ano as condições variam predominando os estadios larvais, enquanto os adultos vão rareando; todavia, em localidades favoráveis ao desenvolvimento das triatomas e onde elas pululam, é possível encontrar-se adultos em qualquer mês, embora em número escasso". Tais observações coincidem em parte com o que foi verificado com o *P. megistus* em Bambuí.

Ainda de acôrdo com Neiva (1910), o *P. megistus* pode levar 324 dias para realizar o ciclo completo de ovo a ovo; adverte, porém, que "é êste o prazo mínimo possível, porquanto as condições artificiais de cultura auxiliaram imensamente a evolução". Refere a facilidade para a repetição das refeições como fator susceptível de abreviar a duração do ciclo evolutivo e menciona o fato de ser o hematofagismo praticado com maior avidês em temperaturas altas, diminuindo muito a 14.º.

Pessoa e Barros (1939) foram aparentemente os primeiros a conseguir abreviar de modo considerável o tempo de evolução artificial do *T. infestans* mediante a conservação dos insetos à temperatura de 37º e pelo oferecimento frequente de alimentação. Em tres experiências obtiveram o crescimento até adulto nos períodos médios de 99 a 109 e 111 dias, tendo sido de 94 e de 114 dias os prazos minimo e máximo observados. Mantendo insetos das mesmas posturas à temperatura ambiente para comparação, verificaram que eles se mantinham em segundo estadio ou realizaram a segunda muda, enquanto que os dos lotes acima referidos já haviam alcançado o estado alado. Afirmam ainda estes autores que "Com o *T. infestans* em São Paulo, e em temperaturas de laboratório, nunca obtivemos evolução completa de ovo a adulto em menos de 300 dias". Concluem de suas observações que a 37.º "a maioria dos exemplares evolvem e chegam a adulto em cerca de metade do tempo menos que as larvas irmãs mantidas em condições de ambiente, no laboratório" e referem que alguns exemplares ao atingirem a fase de ninfa, estacionam em sua evolução.

Segundo Maggio & Rosembusch (1915), o *T. infestans* evolui de ovo a adulto em um ano e meio, em criação, em Buenos Aires.

No Estado do Paraná, de clima mais frio que o de Minas Gerais, e de acôrdo com apurações em dados do Serviço Nacional de Malária, que agradecemos ao Dr. F. Machado Bustamante, houve predominância do estadio ninfal de *T. infestans* de abril a setembro (quadro 9).

QUADRO 9

Triatoma Infestans — Estado do Paraná — 1953
Dados fornecidos pelo Serviço Nacional de Malaria
(Dr. F. M. Bustamante)

MES	Total	ADULTOS		NINFAS		LARVAS		Municípios
		Total	%	Total	%	Total	%	
Abril	1 316	635	48	484	37	197	15	Jacarezinho
	1 310	293	22	543	41	474	37	Sengés
	2 626	928	35	1 027	39	671	26	
Maio	918	511	56	130	14	277	30	Cambará
	4 040	1 067	26	1 625	40	1 348	33	Wenceslau Braz
	4 958	1 578	32	1755	35	1 625	33	
Junho	707	274	39	273	39	160	22	Andirá
	165	63	38	62	38	40	24	Carlópolis
	577	212	37	226	39	139	24	Ribeirão Claro
	1 179	271	23	544	46	364	31	Siqueira Campos
	2 628	820	31	1 105	42	703	27	
Julho	184	54	29	71	39	59	32	Leópolis
	337	125	37	129	38	83	25	Santa Mariana
	146	42	29	73	50	31	21	Sertaneja
	667	221	33	273	41	173	26	
Agôsto	107	53	50	29	27	25	23	Alvorada do Sul
	240	99	41	112	47	29	12	Lupionópolis
	193	69	36	124	64	—	—	1.º de Maio
	421	161	38	168	40	92	22	Porecatú
	961	383	40	433	45	146	15	
Setembro	392	153	39	147	38	92	23	Centenário do Sul
	66	31	47	30	45	5	8	Nova Esperança
	8	8	100	—	—	—	—	Paranavaí
	349	117	34	147	42	85	24	Santo Inácio
	815	309	38	324	40	182	22	
Totais de abril a setembro	12 655	4 238	33	4 917	39	3 500	28	

A. Perlowagora-Szumlewicz (1953) relata duas experiências em que criou *T. infestans* no Rio de Janeiro em atmosfera úmida e à temperatura de 24.º-28.º, fazendo a alimentação cada 4-5 dias. Obteve, nessas condições, o aparecimento de adultos nos prazos médios de 68-77 dias e 72-76 dias, tendo sido de 67 e 101 dias os prazos extremos observados. Confirmou, assim, as observações de Pessoa & Barros (1939) e de outros autores, que haviam mostrado que se pode conseguir grande redução do tempo requerido para a evolução de triatomíneos em ambiente aquecido e úmido mediante o oferecimento de frequentes refeições.

Em observações feitas também no Rio de Janeiro, à temperatura de laboratorio e sem modificação das condições ambientes de umidade, verificámos (Dias, 1955) o crescimento de dois exemplares de *T. infestans*, da eclosão a adulto, em 258 e 260 dias, com duas refeições mensais (ovos postos em maio, eclodidos em 22 dias). Nas mesmas condições, porém com 4 refeições por mês, adultos foram obtidos em 143 dias, a partir

de posturas feitas no verão, em novembro de 1941. Um exemplar de *P. megistus* atingiu o estadio alado em 372 dias (4 refeições mensais, ovos de 2-12-40, eclosão em 25 dias) e outros dois especimens chegaram a essa fase em 389 e 416 dias, com duas alimentações mensais (postura em 16-8-41, eclosão em 28 dias).

Pelo confronto dos dados expostos e dos respectivos gráficos com o gráfico n.º 7, que evidencia as variações médias mensais de temperatura e precipitação pluvial em Bambuí, observa-se que a prevalência das formas adultas de *T. infestans* corresponde ao período mais frio e sêco do ano, coincidindo a predominância das larvas com o período mais quente e úmido, ao passo que com o *P. megistus* ocorre justamente o oposto.

E é justamente no verão, quando é maior a atividade hematófaga dêstes hemípteros, que ocorrem com maior freqüência os casos agudos de doença de Chagas. (gráfico n.º 8).

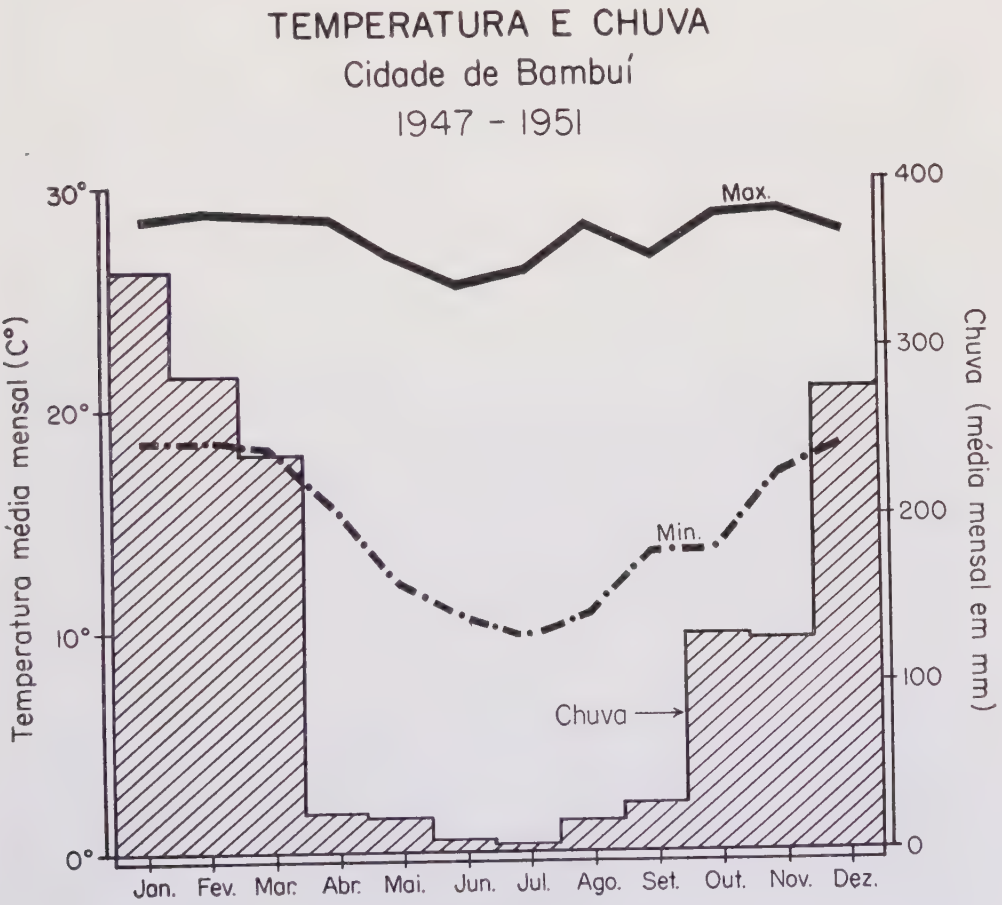


Gráfico n.º 7

Gráfico n.º 8

Um outro ponto de interêsse que merece referência na presente discussão dos dados oferecidos, é o relativo à sua utilidade para a escolha da época preferencial para a realização das campanhas anti-triatoma em cada região. Acreditamos que se deva dar preferência às ocasiões em que aumenta a proporção de insetos jovens para a execução do expurgo dos domicílios, tanto pela grande sensibilidade das larvas, que ao nascer encontram as parêdes protegidas, como pela dos próprios adultos, também bastante sensíveis aos modernos inseticidas de ação residual. Embora a aplicação destes pareça eficaz em qualquer época do ano, se ela fôr feita em setembro ou outubro, em Bambuí, terá a vantagem de surpreender grande número de larvas de *T. infestans* em crescimento e coincidirá com a linha ascencional dos adultos de *P. megistus,* cuja destruição comprometerá a geração seguinte da espécie.

RESUMO

Baseado na análise de um total de 138905 *T. infestans* e 8921 *P. megistus* capturados no município de Bambuí, durante um período de varios anos, foi feito um estudo das variações das percentagens das formas evolutivas de cada espécie nos diferentes meses.

A apresentação dos dados colhidos foi feita de diversas maneiras, tendo sido objeto especial da discussão do presente trabalho as capturas realizadas nas zonas rurais do municipio.

Verificou-se que no caso do *T. infestans* a predominância das larvas ocorreu em novembro, a das ninfas em fevereiro-abril, a dos adultos em abril-julho, e no caso do *P. megistus* a ocorrência maxima de larvas ninfas e adultos, observou-se respectivamente em março, julho e novembro.

Enquanto que o predomínio das formas adultas de *T. infestans* coincide com a estação seca e fria e a das larvas com a estação quente e úmida, acontece exatamente o oposto com o *P. megistus*. A maior ocorrência dos casos agudos de doença de Chagas se dá no verão.

As curvas correspondentes às percentagens de formas jovens (ninfas e larvas) e adultos do *P. magistus* oferecem um aspecto notavelmente constante pela sua intersecção em setembro, quando passam a predominar os insetos adultos sôbre os jovens; no caso do *T. infestans* essa intersecção não tem lugar, devido provavelmente ao aparecimento de formas jovens durante todo o ano, embora haja períodos em que elas aparecem com maior freqüência.

A realização de estudos semelhantes, em diferentes regiões permitirá estabelecer a época em que de preferência devem ser feitos os expurgos, que serão, aparentemente, nas ocasiões em que começam a aparecer as larvas.

SUMMARY

Based on the analysis of a total of 138,905 *T. infestans* and 8,921 *P. megistus* captured in the county of Bambuí, during a period of several years, a study was made of the variations of the percentages of evolutive forms of each species in the different months of the year. In the case of *T. infestans* the predominance of larvae occurred in November, that of nymphs in February-April, and for the adults in April-July. For *P. megistus,* the largest occurrence of larvae, nymphs and adults wepe observed, respectively, in March, July and November. While the predominance of adult forms of *T. infestans* occurs in the dry and cool season, and that of the larvae in the hot and humid season, exactly the contrary is observed in relation to *P. megistus*. The highest occurrence of acute cases of Chagas' disease occurs in summer.

The curves corresponding to the percentages of young forms (larvae and nymphs) and adults of *P. megistus* show a very constant aspect of its intersection in September, when the adult insects become more numerous than the young. In the case of *T. infestans* this intersection does not occur, probably on account of the appearance of young forms during the whole year, although there are periods in which they appear with higher frequency. The realization of similar studies in different regions will establish the season of the year in which the sprays will preferably be made, i. e., when the larvae begin to appear.

REFERENCIAS

1 — Dias, E. — 1945.
Um ensaio de profilaxia de moléstia de Chagas.
Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 116 pp.

2 — Dias, E. — 1946
Profilaxia da doença de Chagas. Resumo das principais atividades do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Bambui, Minas Gerais.
Brasil-Médico 60: 161-163.

3 — Dias, E. — 1954
Índices de infecção dos transmissores da doença de Chagas no município de Bambui, Minas Gerais.
Em impressão na Rev. Brasil. Malàriol. D. Trop.

4 — Dias, E. — 1955
Notas sôbre o tempo de evolução de algumas espécies de triatomíneos em laboratório. Rev. Bras. Biol. 15(2):157-158.

5 — Dias, E. & Brant., T.C. — 1952
Inquérito sobre doença de Chagas realisado nas localidades de Pedra Branca e Sertãozinho, município de Bambui, M.G.
Rev. Brasil. Malariol. D. Trop. 4 (3): 227-230.

6 — Dias, E. & Silva Pinto, O. — 1952
Combate aos triatomas com BHC na cidade de Bambui, M.G.
Rev. Brasil. Malariol. D. Trop. 4 (1): 62-64.

7 — Dias, E. & Zeledon, R. — 1955
Infestação domiciliar em gráu extremo por *Triatoma infestans*.
Memórias do Inst. Oswaldo Cruz.

8 — Maggio, C. & Rosenbusch, F. — 1915
Studien uber die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der "Vinchucas". (Wanzen, *Triatoma infestans* Klug).
Centralbl. f. Bakt. (Orig.) 77 : 40-46.

9 — Neiva, A. — 1910
Informações sobre a biologia do *Conorhinus megistus* Burm
Memcrias do Instituto Oswaldo Cruz 2: 206-212.

10 — Neiva, A. — 1913
Informações sobre a biologia da Vinchuca, *Triatoma infestans* Klug.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 5: 24-31.

11 — Neiva, A. — 1914
Revisão do gênero *Triatoma* Lap.
Tipog. Jornal do Comercio, Rio de Janeiro, 80 pp.

12 — Perlowagora — Szumlewicz, A. — 1953
Ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* em condições de laboratório.
Rev. Brasil. Malariol. D. Trop. 5 (1): 35-48.

13 — Pessoa, S. B. & Barros, N. V. — 1939
Criação do *Triatoma infestans* na temperatura de estufa.
Folha Médica 20 (18): 285-287.

Infestação domiciliária em grau extremo por Triatoma Infestans

por

Emmanuel Dias [1] e **Rodrigo Zeledón** [2]

No decorrer dos trabalhos que vêm sendo realizados pelo Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas no Município de Bambuí, Estado de Minas Gerais, a partir de novembro de 1943, quando foi fundado por esclarecida determinação do Prof. Dr. Henrique Aragão, Diretor Emérito do Instituto Oswaldo Cruz, muitos dados têm sido colhidos a respeito do gráu de incidência de barbeiros (*T. infestans, P. megistus*) nos domicílios, especialmente nas cafuas de pau-a-pique. Alguns dêsses dados já têm sido referidos em comunicações anteriores, ao passo que outros ainda se conservam inéditos. Na presente nota, ocupamo-nos de um domicílio que desde 1951 fôra reconhecido por um de nós (E.D.) como um dos mais infestados do município e no qual foram feitas observações interessantes sob diversos aspectos, como a seguir se verá.

A HABITAÇÃO

Trata-se de uma cafua de pau-a-pique, coberta de capim, que fôra construida em 1949 pelos seus próprios moradores e que se achava situada na vertente de uma colina nas "Pedrinhas", a cêrca de 7 km da cidade de Bambuí. Achava-se em local isolado, estando a habitação mais próxima a uns 500 metros de distância. Estava dividida em 4 dependências: sala, quarto, cozinha e depósito (ver esquema). Seu estado de conservação era péssimo, havendo-se desprendido grande parte do barro das paredes. As figuras anexas ilustram aspectos da habitação. Nas paredes internas, especialmente nas do quarto, notavam-se inúmeras manchas negras e amareladas, de dejeções de barbeiros. Pela remoção de torrões de barro das paredes achavam-se fàcilmente muitos exemplares de *T. infestans,* exúvias e ovos.

Em vista do estado de ruína a que chegou, a casa foi abandonada pelos moradores em janeiro de 1955, sendo, então, derrubada pelos guar-

---

[1] Chefe da Secção de Inquéritos e Trabalhos de Campo, Divisão de Estudos de Endemias, e do Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas de Bambuí, Instituto Oswaldo Cruz.

[2] Da Universidade de Costa Rica, estagiário do Instituto Oswaldo Cruz.

das do Centro, que procederam à coleta final de barbeiros. As fotografias foram tiradas em dezembro de 1954.

OS MORADORES

Ocupavam a habitação um casal e 4 filhos. Informam os donos que sempre residiram em cafuas com muitos barbeiros, na mesma localidade das Pedrinhas, onde nasceram todos os filhos, que eram em número de 6. Morreram duas meninas: uma, prematura, aos 9 dias, e outra aos 14 meses de idade, com edema generalizado, que fêz suspeitar a doença de Chagas. Embora um único exame de sangue a fresco houvesse sido negativo para *S. cruzi*, é provável que se tratasse de um caso mortal de esquizotripanose.

Fig. 1 — Cafua de Estêvão Ilídio. Notar sua posição isolada

Houve no domicílio duas cadelas, que morreram "envenenadas" (sic) há 1 e 2 anos, uma porca, dois leitões e algumas galinhas, que, quando chocas, dormiam dentro de casa.

Dados sôbre os moradores, que apresentaram, todos, reação de fixação do complemento positiva para esquizotripanose:

1 — Estevão I.S., caso 2 006, sexo masculino, pardo, 49 anos em 1952. Seus pais morreram idosos, de causa ignorada. Diz que sempre foi "sadio", nunca tendo sofrido reumatismo nem doenças venéreas.

Sente palpitações e o "coração dispara" (sic) ao esfôrço e mesmo em repouso. Ligeira falta de ar (classe II). Não acusa dores pre-cordiais nem tonturas. Desde alguns anos sente dificuldade em deglutir, especialmente quando come comida fria

CROQUI DA CAFUA DE ESTÊVÃO ILÍDIO

Figura 2

ou arroz sêco, sendo então necessário beber água "para a comida descer para o estômago".

Indivíduo normolíneo, em bom estado geral, mucosas coradas, hipertrofia ganglionar generalizada, sem dispnéia objetiva. Pêso 51,400 k, altura 1,57 m, tireóide não aumentada.

Ictus cordis não localizável, aorta não palpável na fúrcula, turgência jugular normal. Paredes arteriais, lisas. Pulso regular, frequência 74 p.m. Pressão arterial 112 x 80. *Desdobramento permanente da 2.ª bulha no foco pulmonar.* Eletrocardiograma: bloqueio completo do ramo direito.

Aparelho respiratório: nada de anormal.

Bom apetite, maus dentes; evacuações normais. Não apresenta aumento de baço nem de fígado. Etilista moderado. Exame de fezes (concentração), negativo para ovos de helmintos. Reações de Wassermann e Kahn negativas.

Xenodiagnóstico: *positivo* em 24-10-51, com o seguinte resultado: *T. infestans* 4 positivos e 7 negativos (36,4%); *P. megistus* 1 negativo.

2 — Marieta J., caso 700, sexo feminino, parda, 44 anos aproximadamente. Perdeu o pai antes de nascer, de morte súbita. Houve outros casos semelhantes na família paterna. Sua irmã mais velha também morreu repentinamente. Teve 3 abortos e, como já foi dito, perdeu 2 filhas, uma das quais provàvelmente de doença de Chagas.

Não se sente doente e nada informa quanto a enfermidades pregressas. Ligeira dispnéia. Palpitações ao esfôrço. Dôres precordiais vagas. Sem disfagia. Bom estado geral, pêso 51,600 k, altura 1,54 m. Mucosas pouco coradas. Gânglios palpáveis na axila direita. Tireóide normal. Ictus no 5.º intercosto esquerdo, para dentro da linha hemi-clavicular. Aórta palpável na fúrcula esternal. Turgência jugular aumentada. Pulso 90 p.m., regular. P.A. 130 x 84. Sôpro meso-sistólico. Eletrocardiograma: normal. Pulmões normais. Abdomen proeminente, flácido. Língua saburrosa; quase completamente desdentada; evacuações irregulares, falhando 2-3 dias. Último parto em 1949, da menina que morreu com 14 meses. Inoculação em cobáia, negativa (5 cc de sangue via intra-peritoneal, dezembro de 1954).

Diagnóstico:

Data	*T. infestans*				*P. megistus*			
	N.º	+	—	%	N.º	+	—	%
6-12-45	1	0	1	0	6	0	6	0
24-10-51	14	0	14	0	1	0	1	0
12-2-52	11	0	11	0	—	—	—	—
17-12-54	9	0	9	0				
19-12-54	11	0	11	0				
20-12-54	12	2	10	16				
	58	2	56	3,4	7	0	7	0

3 — Estelino J.S., caso 2 005, sexo masculino, pardo, 23 anos. Nasceu muito pequeno e sem deformações, mas aos 3 meses a cabeça começou a aumentar desproporcionadamente, impedindo-o de sentar-se até os 2 anos. Só andou aos 12 anos, sempre mal, devido à paralisia com retração da perna esquerda, que atinge tambem o braço esquerdo. Idiotia; desde cêdo demonstrou perturbações mentais.

Mucosas visíveis pouco coradas; gânglios palpáveis; tireóide aumentada; aparelhos circulatório e respiratório normais. P.A. 104 x 76. Eletrocardiograma normal. Constipação. Come bem. Péssimos dentes. Moniliose bucal. Inoculação em cobaia, negativa.

Hexodiagnóstico:

Data	*T..infestans*				*P. megistus*				*R. prolixus*			
	N.º	+	—	%	N.º	+	—	%	N.º	+	—	%
24-10-51	9	0	9	0	6	1	5	16,7				
18-12-54	9	0	9	0								
19-12-54	8	0	8	0								
20-12-54	5	0	5	0					4	0	4	0
	31	0	31	0	6	1	5	16,7	4	0	4	0

4 — Maria M., caso 2 004, sexo feminino, parda, 19 anos. 41 k. 1,43 m. Mucosas mais ou menos coradas. Tireóide aumentada. Gânglios palpáveis. P.A. 106 x 70. Eletrocardiograma normal. Mentalmente retardada. Xenodiagnósticos negativos, conforme quadro abaixo; inoculação em cobaia, negativa.

Xenodiagnóstico:

Data	*T. infestans*			
	N.º	+	—	%
6-12-45	7	0	7	0
24-10-51	8	0	8	0
17-12-54	7	0	7	0
19-12-54	11	0	11	0
20-12-54	6	0	6	0
	39	0	39	0

5 — José M.S., sexo masculino, pardo, 15 anos. Nada sente. Gânglios ligeiramente aumentados. Tireóide palpável. 30,5 k, 1,32 m. Pulso 100, P.A. 92 x 64 bulhas cardíacas normais, sôpro sistólico na região meso-cardíaca, eletrocardiograma normal. Inoculação de sangue em cabáia, negativa.

Xenodiagnóstico:

Data	*T. infestans*			
	N.º	+	—	%
24-10-51	11	0	11	0
24-4-52	8	0	8	0
17-12-54	6	0	6	0
18-12-54	8	0	8	0
19-12-54	8	0	8	0
20-12-54	8	0	8	0
	49	0	49	0

6 — LAUDELINA M.S., caso 2 021, sexo feminino, parda, 11 anos, 24,300 k, 1,23 m., gânglios aumentados, tireóide palpável, bom estado geral, mucosas pouco coradas. Ictus no 4.º espaço, pulso regular, 100 p.m., P.A. 94 x 66, bulhas normais. Eletrocardiograma normal. Inoculação negativa.

Xenodiagnóstico:

Data	*T. infestans*			
	N.º	+	—	%
24-10-51	12	2	10	16,7
18-12-54	13	3	10	23
19-12-54	11	0	11	0
20-12-54	6	0	6	0
	42	5	37	11,9

Em resumo, foram feitas 26 provas de xenodiagnóstico nas 6 pessoas residentes na casa em estudo. De um total de 230 *T. infestans* empregados, infectaram-se 11, ou 4,7%; de 14 *P. megistus* foi positivo 1 (7,1%) e os únicos 4 *R. prolixus* utilizados em um dos pacientes não se infectaram. Dos 26 xenos foram positivos 5, ou 19,2%. Das 6 pessoas a que a prova foi aplicada obteve-se resultado positivo em 4 (66,6%).

Os resultados dos exames hematologicos feitos em 5 dos moradores da casa acham-se reunidos no quadro abaixo.

RESUMO DOS EXAMES HEMATOLÓGICOS FEITOS EM 20-12-54

NOME E IDADE	Hemoglobina (%)	Hematias	Leucocitos	Segmentados (%)	Bastão (%)	Linfocitos (%)	Monocitos (%)	Eosinofilos (%)
Marieta J., 44	11g 65%	3 180 000	5 960	59,5	0,0	24,0	4,0	12,5
Estelino J., 24	9g 54%	3 500 000	6 240	63,0	0,5	31,0	1,0	7,5
Maria M., 19	12g 70%	3 900 000	5 240	46,5	0,5	36,5	2,5	14,0
José M. S., 16	12g 70%	3 750 000	9 040	48,5	3,0	28,0	5,5	15,0
Laudelina M., 12	11g 64%	4 010 000	12 280	18,0	0,0	62,5	2,0	17,5

Figura 3 — Fundos da casa

Fig. 4 — Aspecto externo da parede mais infestada da habitação

INFESTAÇÃO POR TRIATOMÍNEOS

No último trimestre de 1951 foram feitas 26 aplicações de Pó Fly-Tox na cafua, as quais possibilitaram a captura de 2 505 *T. infestans* e apenas 3 exemplares de *P. megistus* (1 macho, 1 fêmea e 1 ninfa). Dois expurgos adicionais foram negativos para triatomas.

Em dezembro de 1954 foram feitos, em dias consecutivos, 4 polvilhamentos com pó insetífugo, graças aos quais foram capturados 4 645 *T. infestans* e 1 fêmea de *P. megistus*.

Por ocasião da derrubada da cafua, em 13 de janeiro de 1955, foram ainda capturados 1 398, *T. infestans*, distribuídos na habitação do seguinte modo (v. esquema):

TRIATOMAS CAPTURADOS

Parede n.º	*Adultos*	*Ninfas*	*Larvas*	*Total*
1	127	229	300	656
2	49	37	3	89
3	55	135	453	643
4	2	2	3	7
5	2	0	1	3
	235	403	760	1 398

O quadro seguinte encerra os resultados gerais das capturas feitas na cafua, que atinge o total de 8 548 barbeiros.

RESUMO GERAL DAS CAPTURAS DE T. INFESTANS

DATA	Total capturado	Adultos	Ninfas	Larvas
Outubro a dezembro — 1951	2 505	249	383	1 873
Dezembro — 1954	4 645	1 002	1 335	2 308
Janeiro — 1955	1 398	235	403	760
SOMA	**8 548**	**1 486**	**2 121**	**4 941**

Quanto ao resultado do exame a fresco de dejeções de *T. infestans* para pesquisa de *S. cruzi*, foi o seguinte:

DATAS	TOTAL EXAMINADO				ADULTOS				NINFAS				LARVAS			
	N.º	+	—	%	N.º	+	—	%	N.º	+	—	%	N.º	+	—	%
Outubro, 1951	53	20	33	37,7	26	16	10	61,5	12	4	8	33,3	15	0	15	0
Dezembro, 1954	428	28	400	6,5	224	21	203	9,4	144	5	139	3,5	60	2	58	3,3

Testada pelo Dr. A. Scorzelli, a significância entre as diferenças de percentagens de positividade, entre os resultados obtidos em 1951 e 1954, para o total de insetos, os adultos e as ninfas, verificaram-se resultados significativos, dando, respectivamente, 7, 13, 7, 08 e 4,25 vezes os respectivos êrros. Existem, assim, elementos para se admitir uma diferença real de positividade entre os dados obtidos em 1951 e 1954, a não ser para o resultado das larvas, cuja diferença não foi significativa.

COMENTÁRIOS

Conforme acabamos de referir, numa pequena cafua de pau-a-pique foram capturados nada menos de 8 548 exemplares de *T. infestans* em duas ocasiões, intervaladas de 3 anos: 2 505 recolhidos no último trimestre de 1951 e 6 043 em dezembro de 1954 e janeiro de 1955. E' êste o grau máximo de parasitismo domiciliário por triatomíneo já verificado em Bambuí, e não sabemos de exemplos semelhantes observados em outras regiões.

Fig. 5 — Os moradores do rancho. O chefe da família não aparece na foto

Segundo Dias (1945), as duas casas mais infestadas que observara até então forneceram 3 506 triatomas com, respectivamente, 1 904 e 1 602 exemplares. Mais tarde "com o progresso dos trabalhos e aperfeiçoamento dos métodos de expurgo", Dias (1946) informou haver coletado 14 740 barbeiros nas 13 habitações mais intensamente infestadas da zona

suburbana de Bambuí, sendo que apenas 3 casas contribuíram com 6 539 especimens (2 450, 2 209 e 1 880, respectivamente).

Em outro trabalho, Dias (1954) refere que em capturas efetuadas durante vários anos foram colhidos 24 101 barbeiros nas 27 habitações mais infestadas da zona suburbana de Bambuí, sendo 6 903 apenas nas três mais intensamente invadidas pelos hematófagos (respectivamente 3 087, 2 170 e 1 646 barbeiros).

Estas e outras observações tornaram-se possíveis depois que se começou a empregar o pó de pirêtro (Pó Fly-Tox) como insetífugo nas cafuas, sendo pois oportuno chamar novamente a atenção para o valor deste pó em trabalhos dessa natureza e nos chamados "expurgos de prova" (Dias & col., 1952).

Presta-se, ainda, a observação ora relatada, para mostrar a rapidez com que se podem estabelecer grandes colônias de triatomas no domicilio, quando todas as condições são para isto favoráveis, assunto sôbre o qual quase não há informações. Dois anos após a construção da casa já alí se apanharam, por meio de 26 expurgos com pó de piretro, 2 505 barbeiros, o que constituiu um *record*. E' possível que os moradores trouxessem nas suas tralhas insetos vivos e ovos quando ocuparam a morada. Como foram negativos dois expurgos adicionais feitos em 1951, a cafua ficou pràticamente livre de barbeiros, embora alí ficassem seus ovos nas frinchas das paredes e possìvelmente alguns sobreviventes. De qualquer forma, impressiona o fato de que essa enorme população, que foi quase extinta, houvesse pràticamente triplicado em 3 anos.

Este fato não deve acontecer com frequência, pois do contrário seriam mais comuns os exemplos de infestação maciça das cafuas, que constituem *habitat* ideal para êstes hematófagos. Pensamos que um dos fatôres mais importantes para a limitação das populações de barbeiros, está possìvelmente relacionado com o grau de precaução e vigilância exercido pelos moradores dos domicílios, que muitas vezes tomam medidas mais ou menos adequadas para o extermínio destes hematófagos. A observação desta cafua se torna tanto mais interessante quanto Neiva (1910) diz que "E' sabido que as moradas recém-construídas permanecem durante longo espaço de tempo indenes de invasão de barbeiros, que paulatinamente começam a invadir as habitações". E' possível que exemplos impressionantes como o atual não sejam entretanto raridade, nessa como em outras regiões, onde poderão estar na dependência de estudos amplos, baseados na aplicação repetida e intensiva de triatomífugos eficazes, para serem verificados.

A facilidade com que em certos casos se podem recuperar as colônias domiciliarias de barbeiros está ainda a indicar, ao lado de outros fatos, a conveniência de que prevaleça, nas campanhas de destriatomização com inseticidas de ação residual, o critério da repetição dos expurgos a intervalos relativamente curtos, digamos de 6 meses (Dias & col. 1952), até se verificar a completa negativação da área, em lugar de estender desde logo os expurgos a zonas demasiadamente grandes para permitir sua repetição com a freqüência desejada.

Em relação aos índices de infecção do *T. infestans* verificados em duas oportunidades na mesma cafua, é interessante observar a sensível quéda das percentagens de positividade de 1951 para 1954; a percentagem global caiu de 37,7% para 6,5%, a de insetos adultos de 61,5% para 9,4% e a das ninfas de 33,3% para 3,5%, enquanto a das larvas subiu de 0 para 3% em vista do maior número de indivíduos examinados. A análise estatística, que agradecemos ao Dr. A. Scorzelli, revelou diferenças significativas entre estes resultados, à exceção dos das larvas.

Fig. 6 — Captura de barbeiros após polvilhamento de pó Fly-Tox com bomba para aplicação de cianogaz

Estas diferenças estão provàvelmente ligadas à presença de algum caso incipiente de esquizotripanose entre os moradores, na ocasião em que os índices de infecção dos barbeiros foram mais altos.

Com respeito aos moradores, não é de admirar que tôda a família fôsse infectada pelo *S. cruzi*. Enquanto a reação de fixação do complemento foi positiva em todos êles, o xenodiagnóstico o foi em 4 das 6 pessoas, tendo sido a prova repetida várias vezes. Foram feitos ao todo 26 xenos, dos quais 5 (19,2%) foram positivos. Foram utilizados 230 *T. infestans* dos quais 11 (4,7%) se contaminaram; de 14 *P. megistus*, 1 se infectou (7,1%). Nos xenos feitos até 1951 foram empregados 92 *T. infestans*, com 6 positivos (6,5%); em 1954 utilizaram-se 138 espécimens, com 5 positivos (3,6%), verificando-se, assim, uma baixa da positividade

não só nos barbeiros de cafua, como também nos que foram postos a sugar os moradores uma única vez nas provas de xenodiagnóstico.

Os exames hematológicos revelaram estados anemicos hipocrómicos, para cujo estabelecimento deverá ter concorrido a ação espoliadora dos hematófagos.

Sòmente o chefe da família, um homem de 49 anos, apresentou evidências clínicas e eletrocardiográficas de cardiopatia chagásica crônica (bloqueio completo do ramo direito); nos demais individuos o traçado foi normal. Ocorreu na família, segundo toda probabilidade, um óbito por esquizotripanose aguda, em criança de 14 meses que morreu edemaciada e em que essa etiologia foi suspeitada, motivando um exame de sangue a fresco, que foi negativo.

Fig. 7 — Vidro com os barbeiros capturados na casa em dezembro de 1954

Custa imaginar como indivíduos possam viver, por anos a fio, sujeitos tôdas as noites, passìvamente, à sanha de vorazes sugadores, permitindo, às expensas do próprio sangue e da própria saúde, que centenas e milhares de daninhos insetos pululem em suas miseráveis habitações. Na impossibilidade atual de se substituir estas por abrigos mais dignos da condição humana, cumpre que se prossiga, sem esmorecimentos, na luta contra a doença de Chagas, êsse grave problema sanitário tão ìntimamente ligado ao problema básico da habitação rural.

AGRADECIMENTOS

Os autores muito agradecem ao Dr. A. Scorzelli pela análise estatística à que submeteu os dados relativos às percentagens de infecção verificadas nos triatomas da cafua. Agradecem também a Eduardo, João Carlos, Ezequiel e Aloisio Pinto Dias pelo entusiasmo com que colaboram nas capturas de triatomíneos.

RESUMO

Uma pequena cafua com 4 dependências e sòmente um quarto de dormir, com uma área 60 m² de paredes internas, construída em 1949, foi reconhecida desde 1951 como uma das mais infestadas por triatomas, no Município de Bambuí.

De outubro a dezembro de 1951 foram nela capturados, por meio de 26 expurgos com pós de pirêtro, 2 505 exemplares de *T. infestans* e 3 de *P. megistus*. Em dezembro de 1954 foram recolhidos pelo mesmo processo, em 5 dias seguidos, mais 4 645 *T. infestans* e 1 *P. megistus*. A cafua foi demolida em janeiro de 1955, tendo sido capturados ainda 1 398 *T. infestans*, perfazendo-se assim, um total de 8 552 barbeiros apanhados em uma única cafua! Observou-se uma baixa das percentagens de infecção de *T. infestans* por *S. cruzi*, que de 37,7% em 1951, caiu para 6,5% em 1954. Nos individuos adultos ela baixou de 61,5% para 9,4%, nas ninfas de 33,3% para 3,5%, diferenças essas que se mostraram estatisticamente significativas.

Todos os 6 moradores eram portadores de doença de Chagas; a reação de fixação do complemento foi positiva em todos e o xenodiagnóstico em 4 dêles. O hemograma, feito em 5 dêsses indivíduos, revelou graus variáveis de anemia. Sòmente o chefe da família, um homem de 49 anos, era caso de cardiopatia chagásica crônica, apresentando bloqueio completo de ramo direito. O último filho do casal faleceu aos 14 meses com edema generalizado, sendo possìvelmente um caso de esquizotripanose aguda, embora um único exame a fresco tenha sido negativo, pouco antes da morte.

SUMMARY

A small mud hut, which was built by its owners in 1949, was known, since 1951, to be one of the houses most heavily populated by triatomid or cone-nosed bugs in Bambuí.

A total of 2 505 individuals, belonging to the species *Triatoma infestans*, were collected there from October to December, 1951, in 26 applications of pyrethrum powders into the holes of the walls. Three years later, in December, 1954 no less than 4 645 bugs were collected the same way, in five consecutive days. The hut was destroyed in January 13, 1955 when 1 398 additional insects were collected. Then, a total of 8 548 specimens of *Triatoma infestans* were captured in this single house, while only 4 *P. megistus* were captured.

It has been observed that the proportion of bugs naturally infected with *S. cruzi* decreased from 37,7 per cent in 1951 to 6,5 per cent in 1954. The percentage of infected adult individuals dropped from 61,5 to 9,4 and in "nymphs" it dropped from 33,3 to 3,5 in respectively 1951 and 1954. These differences were found to be statistically significant.

All the six people inhabiting this hut exhibited a positive complement-fixation test (*S. cruzi* culture antigen) and xenodiagnosis was positive in 4 of them. Haemograms taken from 5 of them showed varying degrees of anaemia.

The head of the family, 49 years old, was a Chagas' disease case with right bundle-branch block, while the electrocardiogram was normal in the other people.

The last-born child of the couple died at the age of 14 months with fever and oedema, so it was possibly a case of acute schizotrypanosis.

REFERENCIAS

Dias, E., 1945, Um ensaio de profilaxia de moléstia de Chagas. *Imprensa Nacional,* Rio, 116 pp.

Dias, E., 1946, Profilaxia da doença de Chagas. Resumo das principais atividades do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí, Minas Gerais, durante dois anos. *Brasil Médico* 60 (18-19): 161-153.

Dias, E., 1954, Indices de infecção dos transmissores da doença de Chagas no Município de Bambui, Minas Gerais. Em impressão na *Rev. Brasil. Malariol. D. Trop.*

Dias, E., Silva Pinto, O., Pellegrino, J. & Castro, J. A., 1952, Ensaio experimental de luta contra os triatomas por meio de inseticidas de ação residual.
Rev. Brasil. Malariol. D. Trop., 4 (1): 22-46.

Neiva, A., 1910 — Informações sôbre a biologia do *Conorrhinus megistus*
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 2 (2): 206-212.

Paper electrophoretic and enzimatic studies on blood serum, venom and liver of "Bothrops jararaca" *

por

Luiz P. Ribeiro, Emílio Mitidieri and **Gilberto G. Villela**
(Biochemical Laboratory, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro)

Large amounts of riboflavin have been found in blood serum of *"Bothrops jararaca"* (25) (26) and it has been shown that almost all of the flavins are bound to proteins (20). NEUMANN and HABERMANN (11) in paper electrophoretic studies of the venom have found two protein fractions and one protein-free area in the electropherogram which presented a bright yellow fluorescence, probably due to flavins.

In a previous report (24) we have presented some results obtained for the electrophoretic analysis of blood serum of B. jararaca in which fluorescent areas due to flavins were also noted. Since xanthine oxidase (XO) and L-amino acid oxidase have a flavin adenine-dinucleotide (FAD) as prosthetic group, the estimation of these enzymes was accomplished in order to see if they could account for the flavins occurring in the blood serum and venom of this snake.

Methods and Results.

1). Enzymes Assay:

XO activity of the liver, blood serum and venom was measured by the manometric method of Axelrod and Elvehjem (1) as previously described (22). The liver of *"Bothrops jararaca"* was homogenized with five volumes of distilled water in a Warren blendor. After incubating the homogenate at 37°C for 45 minutes, in order to partly suppress the endogenous respiration, 1.5 ml of the homogenate, corresponding to 250 mg of fresh tissue, was placed in the Warburg flask. The side arm was filled with 0.2 ml of 0.05 M xanthine solution and a folder filter paper was placed in the center well containing 0.2 ml of 20% KOH solution. In all experiments the phosphate buffer pH 7.4 was substituted for pyrophosphate pH 8.6 according to the observation of Dhungat and Sreenivasan (2) that pyrophosphate buffer inhibit the endogenous respiration of the homogenates.

* This work is dedicated to Prof. HENRIQUE B. ARAGÃO.

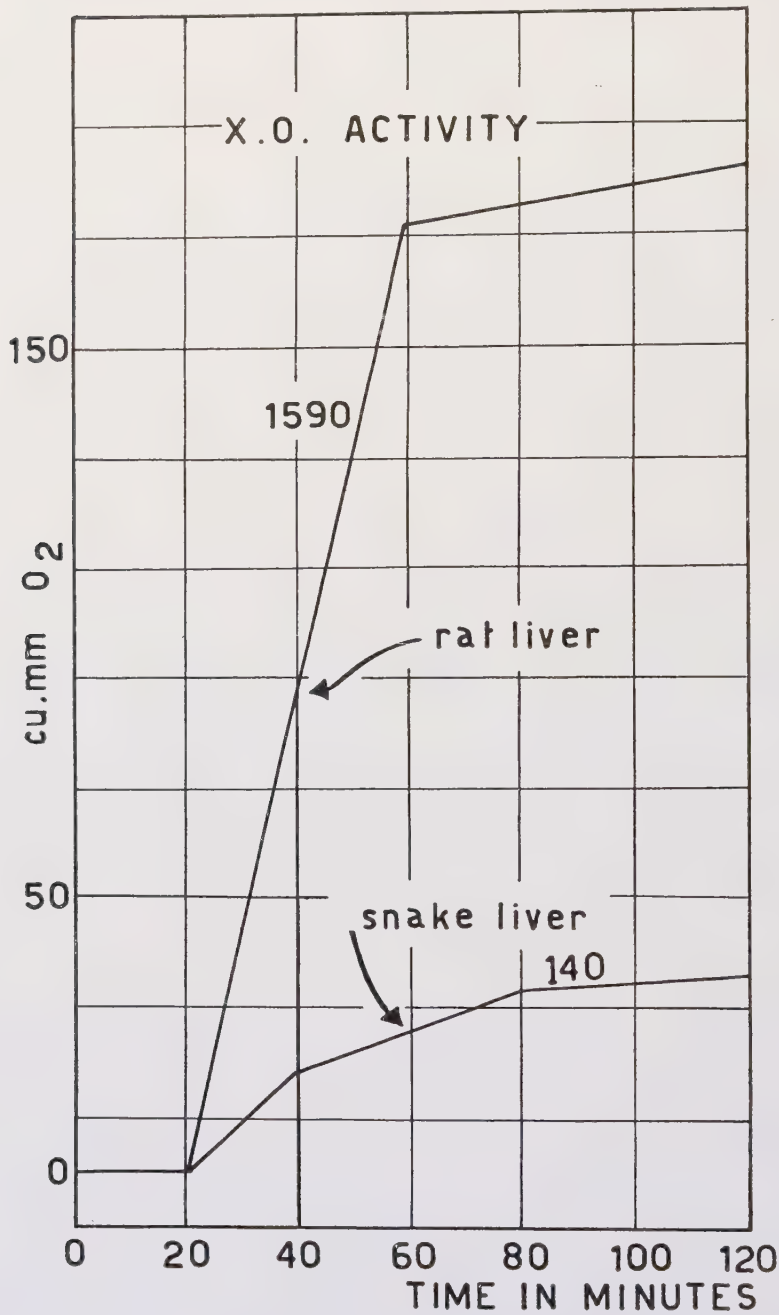


Fig. 1 — Xanthine oxidase activity of snake and rat livers. Numbers on the curves represent cu.mm 0_2/g dry wt./hour.

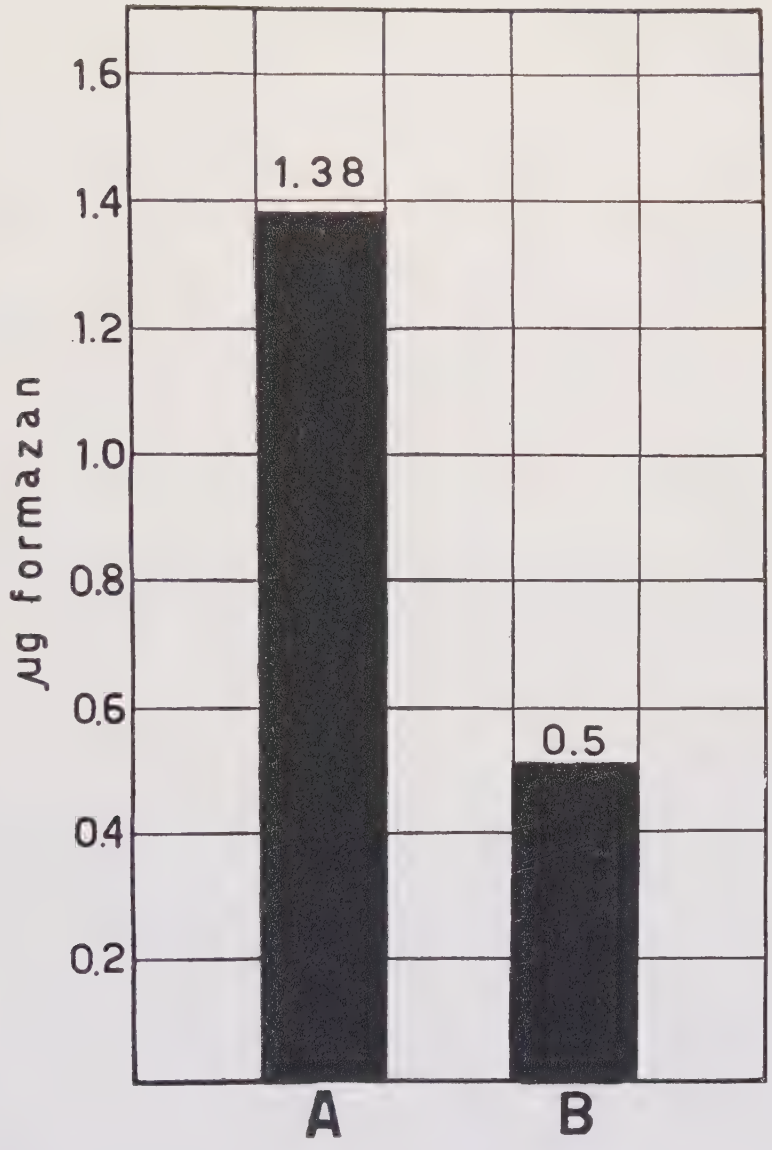


Fig. 2 — Xanthine dehidrogenase activity. A: Rat liver; B: Snake liver.

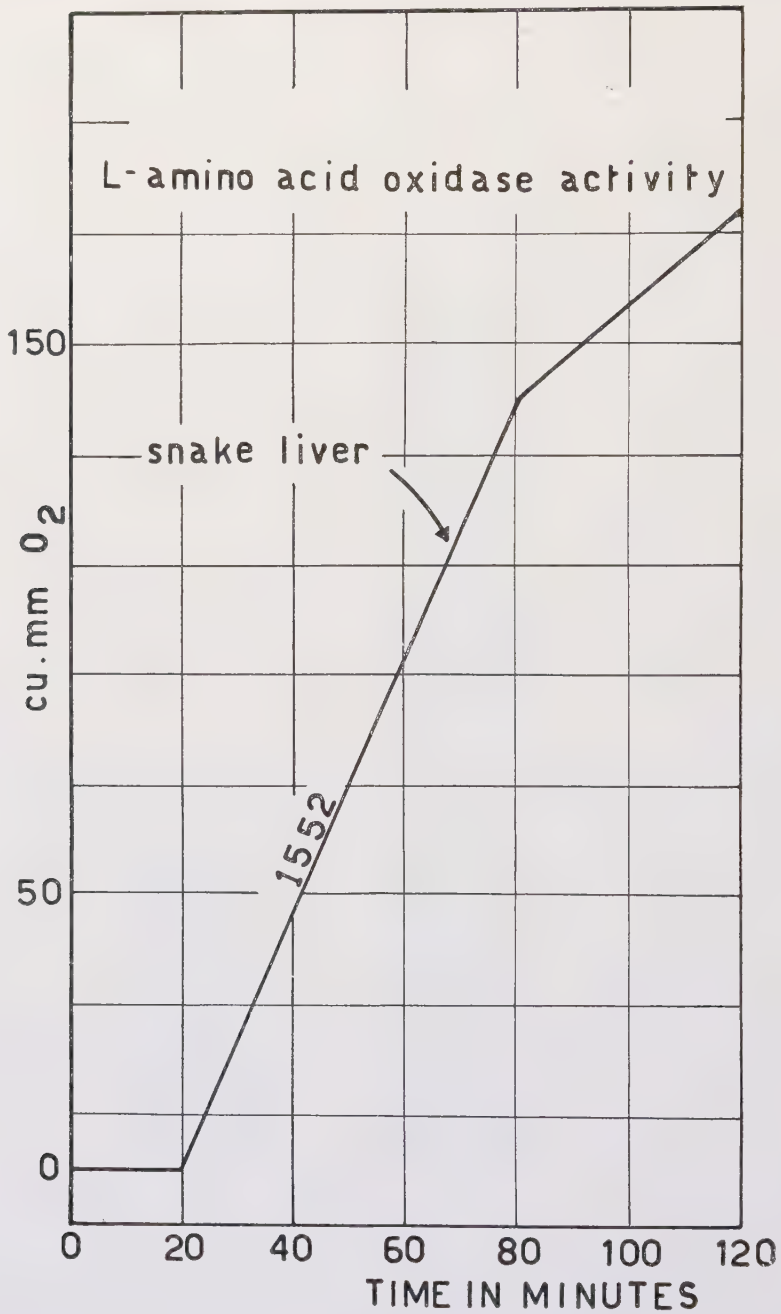


Fig. 3 — L-amino acid oxidase activity of snake liver. The number on the curve represents cu.mm 0_2/g dry wt/hour

All flasks were filled with enough pyrophosphate to give a final volume of 3.0 ml. After equilibrating the flasks for 10 minutes at 37°C the first reading was taken and the side arm substrate tipped in. The subsequent measurements were made every 20 minutes for 120 minutes. Liver XO activity was then calculated as oxygen consumption and the results expressed in cu.mm $_2$ g. dry weight hour at 37°C. The determination of XO activity in blood serum was made in the same way, using 2ml of serum and a final volume of 3ml.

Xanthine dehydrogenase (XD) activity was assayed using the colorimetric method of Villela described elsewhere (21). The Thunberg tubes were filled with 1ml of liver homogenate and enough pyrophosphate buffer pH 8.6 to give a final volume of 2.0ml. The side arm contained 0.1ml of the xanthine solution (0.05M) and 0.3ml of 0.1% triphenyltetrazolium chloride (TTC) solution. After the air was evacuated for 5 minutes the tube was placed in a water bath at 37°C for 10 minutes and the substrate and TTC tipped in.

The formazan produced after 30 minutes of incubation was extracted with petroleum ether after acidification with acetic acid. The extracted color was read in a spectrophotometer at 480 mμ and the results as μg formazan/30 minutes at 37°C/mg dry wt.

XO and XD activities were detected in the liver of *Bothrops jararaca,* the venom and blood serum being practically devoided of the XO and XD activities. The liver of *"Bothrops jararaca"* contains both activities as mentioned above. We have found values of 140 cu.mm 0_2 g dry wt./hour for XO and 0.4 to 0.6 μg formazan/g dry wt./30 minutes at 37°C for XD. The values found here are lower than those reported previously for rat liver (21) (22) (23). These results are plotted in Fig. 1 and Fig. 2 in comparison with those of the normal rat liver.

L-amino acid oxidase activity was determined manometrically by the method of Warburg and Christian (27). In all determinations the pyrophosphate buffer pH 8.3 was substituted for Tris (hydroxymethyl) amino methane buffer pH 7.2 according to the observations of Singer and Kearney (14) (16) that pyrophosphate inhibits the L-amino acid oxidase activity of snake venom. The side arm of the Warburg flask was filled with 0.2 ml of 0.1 M L-leucine and the other experimental conditions were the same used for the XO activity determinations.

L-amino acid oxidase activity of the liver gave values of 1552 cu.mm 0_2/g dry wt./hour. These results are shown in Fig. 3.

The assay of L-amino acid oxidase activity of blood serum of the snakes gave values averaging 15.6 cu.mm 0_2/ml/60 minutes. Recovery experiments were undertaken by adding known amounts of the venom (L-amino acid oxidase activity of which has been previously determined) to the serum. The results were quite satisfactory as shown in Table 1.

TABLE I

L-Amino acid oxidase activity of blood serum of *B. jararaca*

Snake venom	Blood serum	2ml blood serum + 1 mg snake venom	Recovery
182.1 cu.mm 0_2/mg/hour	15.6 cu.mm 0_2/2 ml	196.3 cu.mm 0_2/hour	99.2%

2) Paper Electrophoresis:

Paper electrophoresis was carried out in an apparatus of the sandwich-type described previously (13), with the modifications outlined before (12). The electrode vessels were filled with equal amounts of buffer and the liquid levels balanced. We have used about 750 ml of 0.06 M veronal, pH 8.6 in each vessel where the two ends of the filter paper dipped into buffer solution. The glass plates were coated with a very thin layer of silicone grease with a thick layer on the edge of each plate in order to produce a seal. In all experiments Whatman 3MM filter paper sheets 10cm X 57cm were used. With this arrangement four samples of serum could conveniently be run at one time.

The filter paper was moistened with the buffer and blotted to remove any excess of liquid. It was laid across one of the glass plates allowing 11cm of paper on each end. The apparatus was then allowed to come into hydrostatic equilibrium before application of the serum. With the aid of a micro-pipet, 0.01ml of blood serum was applied on previously marked dots across the center of the paper. The other plate was then placed on top and these were held together by means of six pinch clamps equally distributed along the plates. The power pack was turned on and a potential difference of 220-250V was used, which should give 2-2.5mA in our experimental conditions. The electrophoresis proceeds for 12-16 hours.

After the electrophoretic separation the paper was carefully removed and placed into an oven at 100°-120°C in order to fix the proteins to be stained. The dye-elution technique of Kunkel and Tiselius (5) was employed with some modifications. The filter paper was placed in a tray of 1% bromophenol blue in alcohol saturated with mercuric chloride for 15 minutes. It was then washed with 0.5% acetic acid till the background became white. The strip was again dried and after this it was cut transversely into several narrow sections of 0.5cm. The small sections were eluted with 5ml of 2% sodium carbonate in 50% ethyl alcohol. The eluates were read at 600 mμ, in a spectrophotometer and the readings plotted against distance along the strip as usual. The detection of fluorescent bands in the paper electropherogram was accomplished by exposing the unstained and dried strip to ultraviolet light.

Paper electrophoresis of blood serum gave a spectrum of 7 components and two of these fluoresced when exposed to ultraviolet light. Comparison with human blood serum showed that the fluorescent fractions have a migration rate corresponding to human serum albumin and beta globulin fractions. Fig. 4 shows a typical pattern of the electrophoretic separation. In our experimental conditions it was found that sharply separated zones are difficult to achieve.

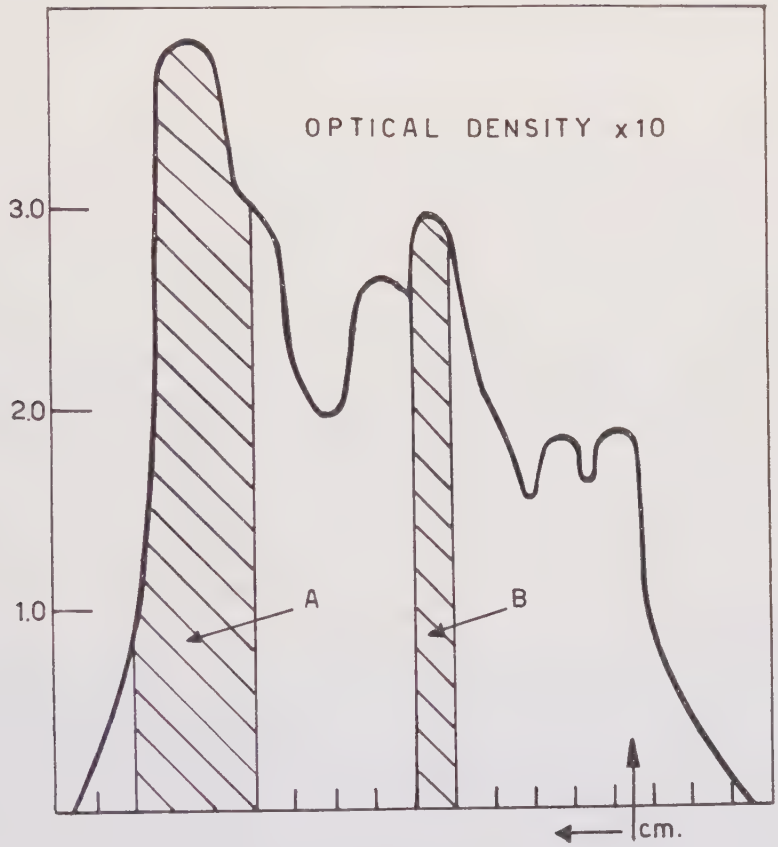


Fig. 4 — Paper electropherogram of blood serum of *B. jararaca*. *A* and *B* are the fluorescent fractions corresponding to human serum albumin and β-globulin respectively. The arrows indicate point of application and direction of run

3) Spectrographic Analysis:

The spectrographic analysis was performed in a large Hilger quartz spectrograph. Samples of venom and blood serum were analyzed by arc technique and the results confirmed the negative data obtained for XO and XD activities, since no molibdenum could be detected, even when 50mg of dry venom and 2ml of fresh serum were used.

Table 2 shows the results obtained for the venom and serum.

TABLE II

Spectrographic analysis of venom and blood serum of *Bothrops jararaca*.

Venom	Blood serum
Mg	Ca
Na	Si
Ca	Mg
Al	Na (traces)
Mn (traces)	
Si (traces)	

Discussion and Conclusions.

Paper electrophoretic and enzymatic studies have been made by several investigators specially using the venom of different species of snakes. D. von Klobusitzky and P. König seem to be the first investigators to use paper electrophoresis to fractionate snake venom (4). Neumann and Habermann (10) (11) also have used this method for separating "jararaca" and other snake venoms. As previously mentioned, these authors have found fluorescent bands in the electropherogram probably due to flavins. Some enzymes were studied, specially phospholipase. Grassmann and Hanning (3) have also examined a great number of snake toxins by paper electrophoresis and the enzyme activities of the fractions were determined. Special attention was given to lecitinase A and proteolitic activity.

Mochl (6) (7) undertook an extensively electrophoretic and enzimatic study of jararaca toxins. This author studied the enzymatic activities of the different fractions and he was able to detect L-amino acid oxidase, ATP ase, deoxyribonuclease, lecitinase A and proteolitic activities. No reference was made to xanthine oxidase and the serum and liver were not examined. Using densitometric measurements, with ultra-violet light (280 mμ), Michl found a marked increase in optical density in the area corresponding to the starting point of the electropherogram. This fact was explained as due to the prosthetic group (FAD) of L-amino acid oxidase.

It is known that with one exception (18) native flavoproteins, such as L-amino acid oxidase and xanthine oxidase, are not fluorescent (8) (9) (15). The fluorescent spots found in our electropherogram of the snake serum could then be due only to some denaturation of L-amino acid oxidase or to some other flavoprotein not investigated, since no XO could be detected. As a matter of fact, the electrophoretic pattern seems to show that spot A could be due to some denaturation of L-amino acid oxidase if one accepts the same localization of this enzyme activity in

both serum and venom of B. jararaca. This is acceptable since Michl showed that the L-amino acid oxidase activity of the venom is localized in the faster migrating protein fraction. Although we did not have conclusive evidence for this statement it seems to be possible since denaturated flavoproteins are fluorescent (17).

The venom of B. jararaca is also very rich in riboflavin (19) and appears to be one of the richest known sources of L-amino acid oxidase (28) (17). As in our assays xanthine oxidase could not be detected it seems possible that the flavins are part of the FAD bound only to L-amino acid oxidase, as demonstrated previously by Singer and Kearney (15).

In conclusion we may say that the flavins of blood serum and of the venom of *Bothrops jararaca* are partly linked to the protein fractions as was shown by paper electrophoresis and dialysis experiments. These flavins also seemed to be in the form of FAD bound only to L-amino acid oxidase, since no XO could be detected. Further experiments are now in course to establish the nature of the flavin compounds present in blood serum and venom of some snakes and will be the subject of a future publication.

Acknowledgements.

The authors wish to acknowledge Dr. P. E. Barbosa, Laboratório da Produção Mineral, Rio de Janeiro, for the spectrographic analysis. Thanks are also due to Dr. S. B. Henriques, Instituto Butantan, São Paulo, for the snakes used in the present study.

Resumo.

Fígado, veneno e sôro sanguíneo de "*Bothrops jararaca*" foram estudados por meio da eletroforese em papel e determinação de atividades enzimáticas. Xantina oxidase e deshidrogenase foram encontradas sòmente no fígado das cobras. A análise espectrográfica do veneno e do sôro confirmaram os resultados negativos obtidos para xantina oxidase uma vez que não foi encontrado molibdêneo. L-amino ácido oxidase foi determinada no fígado, sôro e veneno.

A eletroforese em papel do sôro sanguíneo mostrou que existem 7 frações proteicas, sendo que duas apresentam fluorescência característica de flavinas, quando expostas à luz ultra-violeta.

Em vista dos resultados obtidos é concluido que as flavinas do sôro e do veneno de *Bothrops jararaca* estão na maior parte ligadas às proteinas. Estas flavinas combinadas parecem estar sob a forma de FAD (flavina adenina dinucleotídeo) fazendo parte do grupo prostético da L-amino ácido oxidase, uma vez que não foi encontrada nenhuma atividade de xantina oxidase.

REFERENCES

1) — Axelrod, A. E. & Elvehjem, C. A., 1941, The xanthine oxidase content of rat liver in riboflavin deficiency. J. Biol. Chem., 140:725-738.

2) — Dhungat, S. B. & Sreenivasan, A., 1954, The use of pyrophosphate buffer for the manometric assay of xanthine oxidase. J. Biol. Chem., 208:845-851.

3) — Grassmann, W. & Hanning, K., 1954, Elektrophoretische Untersuchungen an Schlangen- und Insektentoxinen. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 296:30-44.

4) — Klobusitzky, D. v. & König, P., 1939, Biochemische Studien über die Gifte der Schlangengattung Bothrops. VI. Mitteilung: Kurzer Bericht über verchiedene, in den Jahren 1936-37 gewonne versuchsergebnisse. Arch. exptl. Pathol. Pharmakol., 192:271-275.

5) — Kunkel, H. G. & Tiselius, A., 1951, Electrophoresis of proteins on filter paper. J. Gen. Physiol., 35:89-118.

6) — Michl, H., 1954, Elektrophoretische und enzymatische Untersuchungen des Jararaca-Toxins. Naturwissenschaften, 41:403.

7) — Micl, H., 1954, Über das Gifte der Bothrops jararaca. Monatsh. Chem., 85:1240-1250.

8) — Morell, D. B., 1952, The nature and catalytic activities of milk xanthine oxidase. Biochem. J., 51:657-666.

9) — Morell, D. B., 1952, The reduction of cytochrome c by hypoxanthine and xanthine oxidase. Biochem. J., 51:666-669.

10) — Neumann, W., 1953, Untersuchungen über Wirkstoffe und pharmakologische Wirkungen der Gifte von Bienen und Schlangen. Ber. Phys.-Med. Gesell. Würzburg, 66:166-180.

11) — Neumann, W. & Habermann, E., 1952, Zur papierelektrophoretoschen Fraktionierung tierischer Gifte. Naturwissenschaften, 39:286-287.

12) — Ribeiro, L. P., 1955, Eletroforese em papel e sua aplicação clínica. II. Métodos e técnicas. Hospital, 47:169-175.

13) — Rodrigues, E. & Ribeiro, L. P., 1954, Montagem simples de eletroforese em papel para uso em laboratórios clínicos. Hospital, 46:611-616.

14) — Singer, T. P. & Kearney, E. B., 1949, The inactivation of L-amino acid oxidase by inorganic phosphate and arsenate. Arch. Biochem. 21:242-245.

15) — Singer, T. P. & Kearney, E. B., 1950, The L-amino acid oxidase of snake venom. I. Prosthetic group of the L-amino acid of Moccasin venom. Arch. Biochem., 27:348-363.

16) — Singer, T. P. & Kearney, E. B., 1951, The L-amino acid oxidases of snake venom. IV. The effect of anions on the reversible inactivation. Arch. Biochem. Biophys., 33:397-413.

17) — Singer, T. P. & Kearney, E. B., 1954, The oxidizing enzymes. In "The Proteins", (Neurath, H. & Bailey, K., eds.), Vol. II, A, p. 123. Academic Press, New York.

18) — Straub, F. B., 1939, Apud. Singer, T. P. & Kearney, E. B., 1954, The oxidizing enzymes. In "The Proteins", (Neurath, H. & Bailey, K., eds.), Vol. II, A, p. 123. Academic Press, New York.

19) — Taborda, A. & Taborda, L. C., 1941, Da relação entre o corante dos venenos de cobra e sua fluorescência. I. Flavina no veneno de Bothrops jararaca. Mem. Inst. Butantan, 15:47-58.

20) — Villela, G. G., 1945, Sôbre a natureza da flavina do plasma de algumas cobras. Rev. Bras. Biol., 5:113-115.

21) — Villela, G. G., 1954, Determination of rat liver xanthine dehydrogenase by triphenyltetrazolium chloride. Rev. Bras. Biol., 14:455-458.

22) — Villela, G. G. & Mitidieri, E., 1955, Rat liver xanthine oxidase in carbon tetrachloride poisoning. Nature, 175:208-209.

23) — Villela, G. G., & Mitidieri, E., 1955, Effect of carbon tetrachloride on the rat liver xanthine oxidase. Rev. Bras. Biol., 15:285-292.

24) — Villela, G. G., Mitidieri, E. & Ribeiro, L. P., 1955, Flavoproteins in the blood plasma of the Brazilian snake *Bothrops jararaca*. Arch. Biochem. Biophys., 56:270-273.

25) — Villela, G. G. & Prado, J. L., 1944, Riboflavin in blood plasma of some Brazilian snakes. J. Biol. Chem., 157:693-697.

26) — Villela, G. G. & Prado, J. L., 1944, Flavinas e outros pigmentos do plasma sanguíneo de cobras brasileiras. Rev. Bras. Biol., 4:469-474.

27) — Warburg, O. & Christian, W., 1938, Isolierung der prosthetischen Gruppe der D-Aminosäureoxydase. Biochem. Z., 298:150-168.

28) — Zeller, E. A., 1951, Enzymes as essential components of bacterial and animal toxins. In "The Enzymes" (Sumner, J. B. & Myrbäck, K., eds.), Vol. I, 2, p. 986. Academic Press, New York.

The ribonucleic acid content of some mammalian erythrocytes*

by

Helion Povoa Jr.

Biochemical Laboratory, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D.F.

It has been shown by Thorell (6) that the erythroblast is a cell with a high content of ribonucleic acid (RNA) and that, after maturation, the RNA disappears almost entirely, remaining only a small amount which is histochemically detectable (5).

According to Mandel and col., human erythrocytes contain RNA averaging 51 mg 100 ml., when determined by the phosphorus content. It must be pointed out that neither the technique nor the conversion factor was given by these authors (2). As expected, they have not found any desoxyribonucleic acid in human erythrocytes.

Due to the lack of data in the literature, we thought it of interest to report the data we obtained for the RNA content of some mammalian erythocytes.

Material and Methods:

5 ml of oxalated blood, collected as for the routine hematological examination, were centrifuged and the erythrocytes washed with 0.85% saline, until the supernatant had no color. An aliquot of 0.4 ml of erythrocytes was taken and washed with 5 ml of distilled water, successively rinsing the pipet to completely remove the red blood cells. 5 ml of 10% cold trichloracetic acid were added dropwise, at constant stirring with a glass rod, to prevent the formation of larger precipitates. After centrifugation, the protein precipitate was successively extracted (according to the technique of Schmidt and Thanhauser) (3) by 1% cold trichloracetic acid, water, ethanol (hot extraction) and ethanol-ether (3:1) repeatedly until a clear supernatant was obtained. After drying the residue with ether, the precipitate was extracted as recommended by Schneider (4): twice with 5% trichloracetic acid, during 15 minutes, at 90-95°C. The final volume was adjusted to 6 ml with 5% trichloracetic acid, and an aliquot of 2 ml was pipetted off and heated with an equal volume of the orcinol-hydrochloric acid- ferric chloride reagent (1) (10 mg of orcinol recently dissolved in 1 ml of 0.1%

* This work is dedicated to Prof. Henrique B. Aragão.

ferric chloride in concentrated hydrochloric acid). The mixture was heated in a water bath (100°C) for 45 minutes. After cooling to room temperature, the volume was adjusted to 10 ml with 5% trichloracetic acid and the green color read in a photocolorimeter at 650 milimicra. A blank was prepared with 2 ml of 5% trichloracetic acid. A pentose was used as standard solution and the results expressed as pentose or RNA (multiplying this value by 3.3). The standard deviation of the method was found to be ± 3.1%.

Results:

The results are expressed in Table I. They show clearly that the red cells of rats presented a higher content of RNA (55.1 mg/100 ml) as compared with those of the other mammals studied, as men (33.4 mg 100 ml), guinea pigs and rabbits (25.8 and 24.3 mg/100 ml, respectively). In every case, the average mean was found to be significant.

TABLE I

RNA content of erythrocytes (mg/100 ml)

Number	Rabbit	Rat	Man	Guinea pig	Horse	Sheep
1	22.0	41.2	38.1	24.7	20.3	21.5
2	26.3	48.2	22.8	24.7	29.5	25.6
3	23.8	63.4	22.8	28.5	20.3	
4	23.2	63.4	27.0	25.0		
5	27.3	73.0	25.0	22.8		
6	25.3	79.3	46.1	25.4		
7	20.9	24.7	47.6	19.0		
8	27.3	50.7	37.8			
9	29.8	58.1				
10	26.6	49.0				
11	31.7					
Average Mean..	25.8	55.1	33.4	24.3	23.3	23.5
Standard Deviation	± 3.2	±15.7	±10.2	± 2.7		
Variation Coefficient.....	±12.5%	±28.4%	±30.5%	±11.1%		
Average Mean.	t=7.9	t=3.5	t=3.27	t=9.0		
Significance.....	p<0.01	p<0.01	0.01<p<<0.02	p<0.01		

SUMMARY

RNA was determined in red blood cells of man and other mammals. Our report is based on 41 determinations. Red blood cells of rat showed the highest values in comparison with the blood cells of guinea pig, rabbit, horse and sheep which showed the lowest values, and man with intermediate ones.

The method used was a combination of Schmidt and Thanhauser and Schneider extractions with the final reactions of pentose with the orcinol reagent colorimetrically measured.

Acknowledgement:

The author will express his thanks to Dr. Gilberto G. Villela for his advices and criticism.

SUMÁRIO

O ácido ribonucleico foi dosado em hemátias de mamíferos, num total de 41 casos. Valores altos foram encontrados em hemátias de ratos em comparação com os de cobaia, coelho, cavalo e carneiro. Hemátias humanas apresentaram valores intermediários. Usou-se um método, combinando-se as extrações de Schmidt, Thanhauser e Schneider com a reação final da pentose com o orcinol, lendo-se a côr verde num fotocolorímetro, em 650 milimicra.

BIBLIOGRAPHY

1) — Lusena, C. V., 1951, "Estimation of ribonucleic acid with orcinol", *Canad. J. Chem.* 29(1):107-8.

2) — Mandel, P., Métais, P. et Bieth, R., 1948, "Étude comparé des acides nucléiques des globules rouges chez les oiseaux et chex l'homme", *C. R. Soc. Biol.* 142:1022-4.

3) — Schmidt, G. and Thanhauser, S. J., 1945, "Method for determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues" — *J. Biol. Chem.* 161:83-9.

4) — Schneider, W., 1946, "Phosphorus compounds in animal tissues; comparisons of methods for estimation of nucleic acids" — *J. Biol. Chem.* 164:747-51.

5) — Thoma, K., 1950, "Über den Nachweis von Ribonucleinsäuren in erythrocyten" — *Klin. Woch.* 28:215-6.

6) — Thorell, B., 1947, "Studies on the formation of celular substaces during blood cell production" — *Acta Med. Scan.*, suppl., 200, 120 pp.

On the determination of reducing corticosteroids*

by

Luiz Augusto de Abreu and **Regina Raposo de Abreu**
Biochemical Laboratory, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro

The adrenocortical steroids reducing properties were demonstrated by Reichstein and col. (10) as been due to the presence of an α-ketol group in the side chain.

Talbot and col. (14) used Nelson's alkaline cupric reagent (8) on the determination of reducing corticosteroids, but the slight solubility of these compounds in the reagent gives low results. Nikolaichuk (9) has also used Nelson's reagent in blood and adrenal corticosteroids assay.

The reduction of blue tetrazolium was introduced by Chen and Tewell (1) and it seemed to be specific for α-ketol groups; recently, Sulkowitch and col. (13) have used this method for the estimation of urinary reducing corticosteroids.

Heard and Sobel (4) working with Folin-Wu's phosphomolybdic reagent (3) in acetic acid medium have concluded that reduction to molybdenum blue is given by steroids with a primary or secondary α-ketol function, an α, β-unsaturated 3-ketone group, or both.

Heard, Sobel and Venning (5) have employed this same reagent in the estimation of reducing corticosteroids in urine and adrenal extracts with good results.

We have observed, however, that Heard's method (4) (5) is not very sensible in samples containing less than 50 μg of reducing corticosteroids (expressed as 11-desoxycorticosterone).

On trying several reagents for reducing groups we found that Folin-Ciocalteu's phosphotungsticmolybdic acid (2) is reduced proportionally by amounts of 11-desoxycorticosterone between 0 and 50 μg.

In this paper we report the method used by us, and results obtained in the determination of reducing corticosteroids in human urine and in adrenals of rats and guinea pigs.

---

* This work is dedicated to Prof. Henrique B. Aragão.

MATERIAL AND METHOD

Reagents:

12N H_2SO_4.

Ethyl ether, chloroform, and ether-chloroform mixture — all prepared according to Heard, Sobel and Venning (5).

0.1N NaOH.

Na_2SO_4, anhydrous.

Glacial acetic acid — according to Heard and Sobel (4).

Standard solution of 11-desoxycorticosterone (DOC) — 25 mg DOC/25 ml in glacial acetic acid. This solution must be kept in the refrigerator.

Folin-Ciocalteu's reagent (2).

Na_2CO_3 — aqueous solution 20 g/100 ml.

Method:

Urine — 20 ml (10 ml or less when high values are expected) of a 24 hour urine stored in the refrigerator without preservative, are acidified to pH 1.0 with 12N H_2SO_4 and extracted with 10 ml of ether-chloroform and three times with 5 ml portions of the same mixture in a separatory funel (siliconated stop-cock). The solvents combined extracts are washed with 10 ml (5 x 2 ml) of chilled 0.1N NaOH and with 10 ml (5 x 2 ml) of distilled water.

The extract is dried with Na_2SO_4 then tansferred quantitavely to a Kitasato flask and the solvent evaporated in vacuum.

The residue is transferred to a Pyrex test-tube (11 x 101 mm) with 2 ml of ether. The solvent is evaporated to dryness (37°C), and the transfer procedure is repeated twice more (2 x ml).

Adrenal Glands — The adrenals of an adult rat or a single guinea pig gland are weighed, triturated in a mortar, then extracted with 20 ml of ether-chloroform (4 x 5 ml). The extract is washed with 6 ml of chilled 0.1N NaOH (3 x 2 ml) and with 6 ml of distilled water (3 x 2 ml). The next steps are the same as for urine.

Colorimetry — To the residues in the test-tubes are added 0.05 ml of glacial acetic acid, 0.5 ml of undiluted Folin-Ciocalteu's reagent, and 0.5 ml of H_2O. The tubes are heated in a constant volume boiling water bath. It is important to keep the test-tubes at the same depth in all determinations (4).

After 60 minutes the tubes are removed from bath, cooled, and then 2 ml of H_2O and 2 ml of Na_2CO_3 solution are added. The test-tubes are shaken, the volume adjusted to 5 ml with H_2O, and after 15 minutes the mixtures are filtered and the optical densities read at 650 mμ. We have used an Unicam spectrophotometer with 10 mm tubes, adjusting the zero optical density with a blank made of glacial acetic acid instead of the extract.

Standard Curve — In a series of 11 x 101 mm Pyrex test-tubes 0, 10, 20, 30, 40 and 50 µg of DOC are added and volume adjusted to 0.05 ml with glacial acetic acid. Colorimetry is made as previously described.

RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 1 shows the curve obtained with the described technique.

The results of determinations made in urines of normal adult women appear in Table I, and they are comparable with those obtained by Heard, Sobel and Venning (5) and Sprechler (11).

Table II shows the results of simultaneous determinations made in two urines by the method of Heard, Sobel and Venning (5) and the present method.

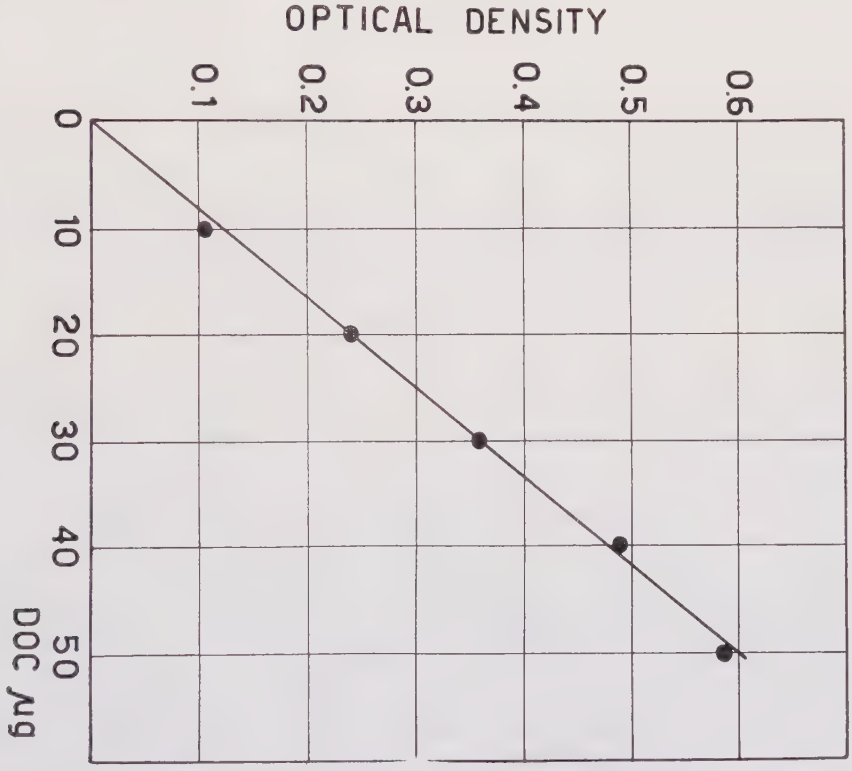


Fig. 1 — Standard curve of 11-desoxycorticosterone with Folin-Ciocalteu's reagent

It must be said that the results obtained by both methods do not express total reducing corticosteroids, which are only determinated after hydrolysis of conjugates with β-*glucuronidase* (6) (7).

The determinations made in adrenals of normal male rats and guinea pigs are presented in Tables III and IV, respectively. These data

are in accordance to those of Staudinger and Schmeisser (12) who have employed phosphomolybdic acid and 500 mg of tissues.

The effect of ACTH on the reducing corticosteroids in adrenal glands of rats and guinea pigs will be reported in a future communication.

TABLE I

Daily urinary reducing corticosteroids excretion.

urine	*mg/24 hours*
A	2.72
B	0.83
C	1.90
D	1.90
E	1.96
F	0.88
Arith. Mean	1.69

TABLE II

Comparison between the method of Heard and col. (5) and the present method.

urine	reducing corticosteroids mg/24 hours	
	Heard and col.	present method
A	1.87	1.86
B	2.99	2.72

TABLE III

Reducing corticosteroids in adrenals of rats.*

rat	weight of 2 glands	reducing corticosteroids	
	mg	µg/2 glands	mg/100 g
A	30.5	15.5	50.8
B	39.5	9.2	23.5
C	27.0	6.5	24.1
D	31.2	11.5	36.8
E	32.4	5.3	16.3
F	19.5	9.1	46.6
G	17.7	5.3	29.9
Arith. Mean	28.2	8.9	32.5

* Determinations were made with both adrenals of each animal.

TABLE IV

Reducing corticosteroids in left adrenal of guinea pigs.

guinea pig	adrenal weight mg	reducing corticosteroids μg/adrenal	mg/100 g
A	186.0	23.4	12.6
B	169.5	23.4	13.8
C	72.9	24.2	33.2
D	111.0	35.9	32.3
Arith. Mean	134.8	26.7	22.9

SUMMARY

1. The authors preconize the use of Folin-Ciocalteu's reagent in the colorimetric determination of reducing corticosteroids.

2. The reaction follows Beer's law in the range 0-50 μg of 11-desoxycorticosterone.

3. Determinations made in human urine and adrenal glands of rats and guinea pigs are comparable with results obtained by other methods.

The authors wish to express their thanks to Dr. Gilberto G. Villela for his interest in this work, and to Prof. Thales Martins and Shering Labs. for the generous gift of 11-desoxycorticosterone.

SUMÁRIO

Os autores preconizam o reagente de Folin-Ciocalteu na determinação colorimétrica dos corticosteroides redutores.

A reação segue a lei de Beer na faixa de 0 a 50 μg de 11-desoxycorticosterona.

A excreção urinária de corticosteroides redutores, em 24 horas, de indivíduos normais variou de 0.83 mg a 2.72 mg com a média de 1.69 mg, sem hidrólise prévia pela β-glicuronidase. A intensidade da reação permite efetuar a dosagem em quantidades de urina sensìvelmente menores às usadas por outros métodos baseados nas propriedades redutoras dos corticosteróides.

Os resultados, obtidos com suprarrenais de ratos, variaram de 16.3 mg a 50.8 mg de corticosteróides redutores por 100 g de glândula, com uma média de 32.5 mg, fazendo-se as determinações com as duas glândulas em cada animal.

A taxa média observada nas suprarrenais de cobaias foi 22.9 mg de corticosteróides redutores por 100 g de glândula, com uma variação individual de 12.6 a 33.2 mg, fazendo-se as determinações sòmente com uma glândula.

Os resultados obtidos são comparáveis aos descritos na literatura.

BIBLIOGRAPHY

1. Chen, C., and Tewell J., H. E., 1951, Corticosteroid determination ffiith blue tetrazolium BT, Fed. Proc. *10,* 377-378.
2. Folin, O., and Ciocalteu, V., 1927, On tyrosine and tryptophane determinations in proteins, J. Biol. Chem. *73,* 627-650.
3. Folin, O., and Wu, H., 1920, A simplified and improved method for determination of sugar, J. Biol. Chem. *41,* 367-374.
4. Heard, R. D. H., and Sobel, H., 1946, A colorimetric method for the estimation of reducing steroids, J. Biol. Chem. *165,* 687-698.
5. Heard, R. D. H., Sobel, H., and Venning, E. H., 1946, The neutral lipide-soluble reducing substances of urine as an index of adrenal cortical function, J. Biol. Chem. *165,* 699-710.
6. Kinsella Jr., R. A., and Glick, J. H., 1953, Hydrolysis of conjugates of urinary corticoids with β-glucuronidase, J. Biol. Chem. *203,* 1003-1011.
7. Mason, H. L., 1954, Hydrolysis of conjugates and extraction of urinary corticosteroids, Recent Progress in Hormone Research *9,* 267-278.
8. Nelson, N., 1944, A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose, J. Biol. Chem. *153,* 375-380.
9. Nikolaichuk, S. P., 1954, A method for the determination of corticosteroids in the suprarrenals and in blood, Biokhimiya *19,* 619-625, cited in Chem. Abst. *49,* 1857g.
10. Reichstein, T., and Shoppee, C. W., 1943, The hormones of the adrenal cortex, Vitamins and Hormones *1,* 345-413.
11. Sprechler, M., 1950, Investigations on the chemical determination of corticoids in urine, Acta Endocrinologica *4,* 205-228.
12. Staudinger, H., und Schmeisser, M., 1948, Quantitative chemische Bestimmung der Nebennierenrindehormone, Z. Physiol. Chem. *283,* 54-63.
13. Sulkowitch, H., Rutenburg, A. M., Lesses, M. F., Gargill, S., and Seligmam, A. M., 1955, Estimation of urinary reducing corticosteroids with blue tetrazolium, New England J. Med. *252,* 1070-1075.
14. Talbot, N. B., Saltzman, A. H., Wixom, R. L., and Wolfe, J. K., 1945, The colorimetric assay of urinary corticosteroid-like substances, J. Biol. Chem. *160,* 535-546.

Algunas consideraciones sobre la enfermedad de hematies falciformes en Venezuela

por

Dr. José Francisco Torrealba [1]; **Dr. Angel Díaz Vázquez** [2]; **Dr. Ibrahim Reyes Rodríguez** [3]; **Br. Domingo González** [4]; **Br. Ana Isabel Torrealba** [5].

Debemos recordar que fué ed médico norteamericano J. B. Herrick, el descubridor de la Anemia con hematíes falciformes en 1910. También es conocida esta enfermedad con los nombres de Anemia drepanocítica, Enfermedad de células falciformes o Enfermedad de Herrick.

La primera publicación que aparece en las Revistas venezolanas sobre esta Enfermedad, es una observación del médico curazoleño A. van der Sar (1943) y trató de un caso en crisis hemolítica, en gestante (1). La enferma pudo salvarse en este embarazo, pero según nos comunicó personalmente el Dr. Ph. H. Hartz (2), quien trabajaba para esa época en Curazao, la enferma pereció en el siguiente embarazo.

Las primeras comprobaciones hechas en Venezuela son de Carbonell y Gómez y datan del 1946 (3). Después los mismos (4) exploraron la región de Barlovento, en el Estado Miranda, donde abunda el elemento africano, casi puro y obtuvieron un 5% de portadores.

Así, se han sucedido las publicaciones y entre estas sobresalen las de Potenza, Irazábal & Barnola (5) sobre un caso donde el estudio anatomopatológico, demostró sérias lesiones en la meninges y centros nerviosos.

En seguida la de Barnola & Quintero (6) en la cual los autores insisten en la importancia quirúrgica de la enfermedad: cuadros abdo-

---

[1] Director del Centro de Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas en S. Juan de los Morros; Profesor Honorario de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes; "F.R.S.T.M.&H."

[2] Médico de la División de Malariologia (Maracay) y adjunto al Centro de Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas.

[3] Jefe del Departamento de Radiología del "Hospital Guárico" en San Juan de los Morros.

[4] Jefe del Laboratorio del "Hospital Guárico" de S. Juan de los Morros.

[5] Estudiante de Odontología de la Universidad Central de Venezuela.

minales semejantes a un abdomen agudo llegando en uno de los casos a ser practicada laparatomía, afortunadamente sin consecuencias letales, porque debe tenerse presente que las intervenciones son gravísimas en estos pacientes; en otros casos, ulceraciones crónicas en las piernas; en otros, cuadros neurológicos por lesiones encefálicas.

En 1952 Torrealba, J.F., Torrealba, P.A. & Ramos, Italia, aconsejados por Barnola, exploraron la región guariqueña y parte de Aragua. Buscan las células falciformes en 200 niños mestizos, después de éstasis sanguineo de 5 minutos, en material recogido en la antigua Casa Hogar de San Juan de los Morros, en el Asilo San Antonio de la Villa, en niños de suburbios de San Juan de los Morros y de Zaraza. No pudieron hallar ningún examen positivo que indicase la tara falciforme o fase latente del mal. En el material de Zaraza, teñido al Giemsa, se halló dos láminas con glóbulos rojos ovales. Creemos se pecó de exámenes solamente en corto lapso y parte del material fué en extendidos hechos seguidamente después del éstasis.

En 1954, en el mismo San Juan de los Morros, el Dr. Pineda (7), comprueba un caso en plena crisis hemolítica, en un niño de suburbios traído al "Hospital Guárico" con un cuadro semejando abdomen agudo y en el cual se indicó, aunque no se llevó a efecto, una operación por apendicitis. El enfermo fué tratado con transfusiones sanguíneas y cámara de oxígeno y pudo recuperarse de su crisis.

La enfermedad parece ser propia de la raza negra o de personas en las cuales existe este mestizaje. Se ha comprobado en pueblos del mediterraneo como Sicilia y Grecia. Marañón (8) advierte que se han comprobado casos en Dinamarca. En España parece ser rara, porque Jimenez Díaz (9) después de examinar varios miles de enfermos de manera exhaustiva dice no tener observaciones personales.

La enfermedad se presenta como constitucional y hereditaria. Parece presentarse en hijos de padres con iguales caracteres (homozigotes). Se puede decir que la verdadera causa no se conoce todavía. Los hematíes anormales, falciformes o sea en hoja de hoz, pierden sus cualidades químicas, como la alteración de la hemoglobina; biológicas y físicas, en especial su elasticidad. Por este último defecto no pueden atravesar los capilares y las arterias delgadas, formando allí grandes montones, trombosándolos. Esto explica las lesiones halladas en los órganos: centros nerviosos, hígado, bazo, riñones, arteria central de la retina etc. trombosis, edemas y necrosis. En el bazo se ha descrito desde 1923 (Sydenstricker, Rich) citados por Edington y Holt y Howland, una siderofibrosis que lo endurece y atrofia reduciéndolo en algunos casos a unos pocos gramos. Sobre estas lesiones ha insistido Edington (10) en su reciente trabajo con 35 casos.

Las alteraciones en el esqueleto son frecuentes y en el cráneo aparece una alteración especial en la tabla externa, llamado por los autores de habla inglesa *hair on end sign* o signo del cepillo. Este signo también se encuentra en la anemia con hematíes en diana o anemía de Cooley o talasemia. Hay alteraciones frecuentes en los huesos cortos. Es muy demostrativa la observación de Gelfand (11).

La enfermedad se presenta con una fase crónica o de latencia y episodios agudos, caracterizados por una hemolisis intensa que hace bajar el número de glóbulos rojos a un millón y a 500.000, fiebre, hepa-

Gráfico n.º 1

N.º 1. — Fotografía del caso agudo. Sixto R.

tomegalia, esplenomegalia (si este órgano no esta atrofiado), albuminuria, cilindruria, hematuria microscópica. Muchas veces este cuadro produce al muerte en convulsiones y coma.

El diagnóstico puede ser difícil, sobre todo sino se piensa en la enfermedad. Cuando las crisis se presentan desde la infancia, rara vez

los enfermitos llegan a adultos (Holt & Howland) (12). Las crisis son provocadas por infecciones o por intoxicaciones. Pueden presentarse en el embarazo y son de suma gravedad. De aquí la importancia de la enfermedad en obstetricia.

En los países donde hay sangre africana, dado lo fácil del examen, debieran buscarse los hematíes falciformes en las salas de Medicina, de Cirurgía, de Pediatría y de Obstetricia, para evitar sorpresas que pueden ser fatales.

NUESTROS CASOS. — Nuestro material clínico se reduce a un caso agudo, en plena crisis hemolítica y a seis mas en latencia.

Caso agudo. — Niño Sixto R., de seis años de edad, natural del vecindario Las Caobas, Municipio Parapara, Distrito Roscio. Los padres lo traen el 13 de agosto a la consulta del Centro de Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas, a dos de nosotros (T. y D.V.), con anemia intensa, cara inchada, fiebre en 39.º, sopor, pulso rápido, de acuerdo con la temperatura, muy reforzado el 2.º ruido, tensión arterial — 60/40, hígado grande (hepatomegalia) a tres traveses de dedo por debajo del reborde costal; bazo grande (esplenomegalia) n.º III de la Escala de Boyd. El borde anterior del órgano se palpa sumamente duro; los ganglios axilares muy aumentados; los inguinales mas aumentados todavía y ésto lo relacionamos con pequeñas ulceraciones muy infectadas en ambas piernas. Los dientes destruidos por caries.

El niño venía de casa con triatóminos y de un vecindario de mucho paludismo antes de la campaña con D.D.T.. Pensamos que podría ser un caso de paludismo o de chagas agudo. Nos llamó la atención lo doloroso del abdomen, sobre todo del epigastrio al hipocondrio derecho. La musculatura abdominal remedaba una defensa. Procedimos seguidamente a exámenes hematológicos: gotas gruesas, extendidos. Mientras se tenían estas preparaciones examinamos algunas en fresco para buscar tripanosomas. No pudimos comprobar parásitos pero sí muchos hematíes falciformes. Seguidamente procedimos a tomar nuevas preparaciones después de éstasis de 5 minutos. Entonces el número de hematíes falciformes se elevó como a un 75%. No quedaba duda de que estábamos en presencia de la Enfermedad de células falciformes (Bauer) de la anemia de Herrick, en su fase aguda, hemolítica. El examen de las gotas gruesas no reveló ni tripanosomas ni plasmodios. Como no podíamos apartar por completo la existencia de Enfermedad de Chagas crónica, porque el enfermito viene de chozas con triatóminos, alimentamos de él, varios *Rhodnius prolixus* para xenodiagnóstico.

Indiscutiblemente habíamos diagnosticado "La Enfermedad de las Máscaras", no porque hubiéramos pensado en ella clínicamente, sino porque pensamos en otras enfermedades que necesitaban examen hematológico en seguida, es decir, se presentó con "la máscara" de enfermedades que urgen exámenes hematológicos: paludismo, enfermedad de Chagas y también pensamos que podría ser Kala-Azar, porque de un vecindario vecino a Las Caobas vino un caso de Kala-Azar, muchacho de 15 años, que es tratado en el "Hospital Guárico", por el Dr. Pineda.

Llevamos al enfermito al "Hospital Guárico" seguidamente y lo examinamos nuevamente con otros colegas MUGICA, ACOSTA, GUERRA MORA, PIETERS, TROCONIS. Se comprobó una gran retención de orina; la vejiga fué vaciada seguidamente. Uno de nosotros (GONZÁLEZ) jefe del Laboratorio de ese Instituto, procedió a hacer mas exámenes:

Contaje rojo 1.000.000; contaje blanco 59,900; hemoglobina 15% (2 gramos); segmentados 80%; linfocitos 10%; monocitos 4%; eosinófilos 1%; Bastón 2%; metamielocitos 3%.

Gráfico n.º 2

N.º 2. — Radiografía del cráneo de Sixto R. Se aprecian lesiones y muy especialmente el signo de *pelos erizados o hair on end*

Extendidos teñidos con Wright: hematíes falciformes, normoblastos ortocromáticos, hipocromia intensa, marcadas anisocitosis y poiquilocitosis.

Examen de orina: cualitativo. Albúmina positiva, glucosa negativa, pigmentos biliares positivo, urobilina positivo, sales biliares positivo, ácido diacético negativo, acetona negativo.

Sedimento urinario. Cristalesd e uratos amorfos, células epiteliales planas, uretrales, vesicales y pélvicas. Glóbulos de pus abundante, gló-

bulos blancos 5 x campo, cilindros hialinos y granulosos, glóbulos rojos abundantes. Bacterias móviles. Heces fecales: Necátor americano.

El enfermito se trata con transfusiones sanguíneas, vitaminas y cámara de oxigeno. La infección de las piernas y de las vias urinárias con Penicilina. El cuadro ha evolucionado favorablemente. Para el 30 de agosto ya los glóbulos rojos están en 2.200.000 y los leucocitos bajan a 11.000. El cuadro de gravedad se ha disipado pero persisten los signos de inflamación renal: cilindruria, albuminuria y hematuria microscópica, moderadas.

Gráfico n.º 3

N.º 3. — Radiografía del cráneo de Sixto R. Se aprecian mas lesiones.

Estudio radiológico. Uno de nosotros (I. R. R.), Radiólogo del "Hospital Guárico", practicó radiografías del cráneo, de perfil y de frente, de los huesos, de las piernas y de las manos. Radiografía del cráneo de los padres y un hermano.

El informe se resumió así:

Cráneo: discreta turricefalia; porosis particularmente en los parietales; hiperostosis frontal externa, de tipo eburnizante; hiperostosis pa-

rietal de tipo espiculado dando el signo de cabellos erizados — *hair on end* — de los autores de habla inglesa.

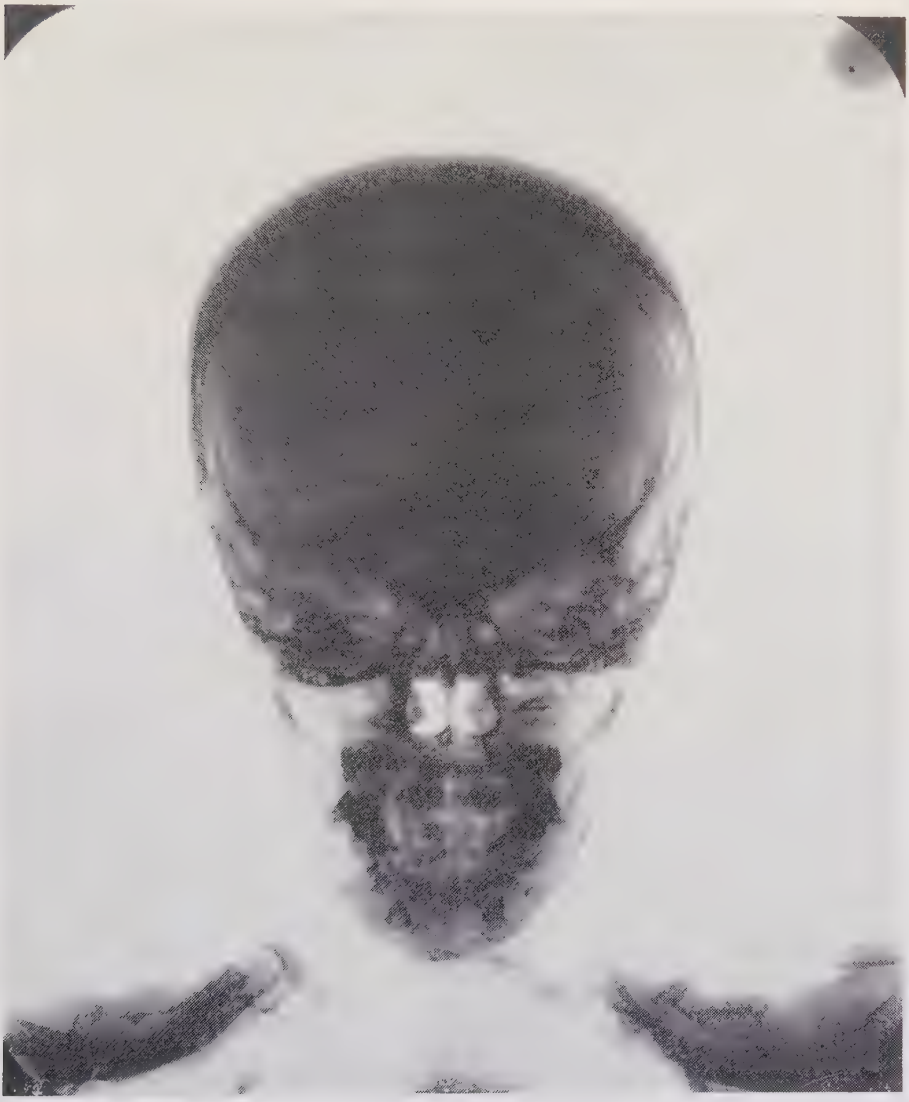


Gráfico n.º 4

N.º 4. — Radiografía del cráneo del padre de Sixto R. Caso latente. Con lesiones. Discreto signo de "pelos erizados" o *hair on end.*

Piernas y manos sin lesiones óseas actualmente.

Tanto en la radiografía craneal del padre de Sixto R. como en la de la madre, hay lesiones semejantes a las del hijo, aunque menos extensas

y estos no han sufrido ninguna crisis hemolítica, es decir, están en plena latencia. Esto quiere decir que la opinión de Bauer (citado por Barnola) es justa, no se trata de anemia de hematíes falciformes, sino de Enfermedad de hematíes falciformes, en la cual se producen lesiones aunque no haya habido nunca crisis hemolítica. Estos dos enfermos muestran el signo del *hair on end* muy aparente. Estas lesiones en los llamados casos latentes indica que la latencia no es verdadera, sino en cuanto a las crisis hemolíticas, porque las lesiones en los llamados casos en latencia, indican una enfermedad en marcha. Puede que en muchos de ellos nunca se presente la crisis hemolitica pero pueden presentarse otros cuadros morbosos; síndromes nerviosos, úlceras en las piernas, cardiopatías, artralgias pseudoreumáticas etc. Todo esto comunica importancia a esta enfermedad, todavía con misterios en cuanto a su etiología y patogenia.

Los seis casos crónicos de mal latente. — Tanto en el enfermito como en los familiares que fueron examinados, el color de la piel es bastante prieto. Fueron examinados el padre de 27 años, la madre de 25 años y un hermanito de 10 meses.

En los tres la sangre se tomó de un dedo después de éstasis sanguíneo de 5 minutos. En las preparaciones rodeadas con parafina se comprobó en los tres, a pocos minutos de ser extraída la sangre, una gran cantidad de hematíes falciformes. Las preparaciones examinadas a las 24 horas mostraron una cantidad no menor de 70% de hematíes anormales. No queda duda de que la familia tiene la tara falciforme. En estos tres familiares del enfermito no hay signos de enfermedad sino la habitual desnutrición del campesino.

Nuevos exámenes de gente de color del poblado. — Uno de nosotros (Ana I. Torrealba) procedió a examinar nuevamente personas de color del poblado y algunos pocos de otros lugares. La gota de sangre se extrajo después de 5 minutos de éstasis. Las preparaciones se examinaron cada seis horas y el último exámen se practicaba a las 24 horas.

Casi todo el material fué de suburbios de San Juan de los Morros. Los extraños al lugar fueron de Caracas, San Sebastián, La Guaira, Puerto Cabello, Valencia, El Sombrero, El Callao, Zaraza, Biscucuy, Quiriquire, El Pao de Barcelona, San José de Tizaados, Petare, Güiria, Maracay, Barinitas, Camatagua, Las Mercedes y de Delta Amacuro, una niña guaraúna. En un total de 154 muestras, examinadas pacientemente se pudo comprobar hematíes falciformes. El material se tomó preferentemente en niños de piel oscura. En este material hemático recogido en suburbios se comprobó tres casos de latencia en una misma familia, dos niñas y un niño, dos de ellos con abundantes hematíes falciformes. En total, con los anteriores, suman siete en 158 exámenes: 4,43%.

Para terminar estas breves consideraciones debemos citar dos comunicaciones orales: la del Dr. Fernando Rojas Marroquín, jefe del Laboratorio de la Unidad Sanitaria en San Juan de los Morros, quien

comunica que ha comprobado muchos portadores de células falciformes en sus miles de exámenes; y la del Dr. Goetz Maekelt, jefe del Laboratório Central de Valencia, quien comunicó que había diagnosticado allí diez casos en crisis hemolíticas.

Agradecimientos. — Expresamos nuestra gratitud al Dr. Chein Dagger, Director del "Hospital Guárico", por haber puesto gentilmente a la orden del enfermito todo lo necesario. A los Doctores: Antonio J. Acosta, Gonzalo Pieters Osío, Santiago Mugica Neira & Hernán Troconis Angulo, por su colaboracion como Médicos Residentes en la asistencia del enfermo.

Al Dr. Eduardo Guerra Mora por su colaboración como Jefe de la Sala de Clínica.

Al Dr. Tulio Pineda *por sus* consejos de Hematólogo y de Pediatra.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. A. van der Sar, 1943, Anemia con eritrocitos en forma de hoz, en gestante. *Rev. Polic.* Vol. XII n.º 68 : 1-12, Caracas.
2. Ph. H. Hartz, 1955, Comunicaciones orales.
3. L. M. Carbonell & O. L. Gomez, 1946, Sicklemia en Venezuela. *Bol. Bibli. Inst. Med. Esp.* 1-56. Caracas.
4. Gomez, O. L. & L. M. Carbonell, 1946, Drepanocitos en Venezuela. Resultados de las investigaciones en la zona costera de Barlovento. *Gac. Med.* Caracas. Abril-Junio.
5. L. Potenza, J. Irazábal & J. Barnola D., 1951, Lesiones meningaencefálicas en un niño con anemia falciforme. *Arch. Vene. de Puer. y Pedia.* Vol. XV. Enero-Marzo, 43 : 68-76.
6. José Barnola & H. Quintero Uzcátegui, 1952, Enfermedad de células falciformes. Su interés en Cirugía Primera comunicación en Venezuela. Primer congresso Venezolano de Cirugía 12 a 16 de marzo 1952. Edit. Sucre. 7 pag. 5 graf. Caracas. Separata.
7. Tulio Pineda, 1954, Sobre un caso de anemia a células falciformes. Integralismo Sanitario n.º 1 San Juan de los Morros.
8. Gregorio Marañon, 1952, *Diagnóstico Etiológico.* Calpe. Madrid.
9. C. Jimenez Díaz, 1949, Lecciones de Patología Médica. Tomo IV, pag. 172. Madrid-Barcelona. Editorial Científica-Médica.
10. G. M. Edington, 1955, The Patology of Sickle-cell Disease in West Africa. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Vol. 49 n.º 3, mayo, pags. 253-267. Seis gráficas. Londres.
11. Michael Gelfand, 1955, A case of Sickle-cell anaemie in an indigenous African child from mashanaland. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Vol. 49, n.º 3, mayo. 5 pags. 3 gráficas. Londres.
12. L. E. Holt & J. Howland, 1943, Tratado Pediátrico. U.T.E.H.A.

San Juan de los Morros, 2 de septiembre de 1955

Identificação de cogumelos patogênicos por meio da coloração ácido periódico -- Schiff

pelo

Dr. R. Pimenta de Mello, * L. Pimenta de Mello ** e A. Perez ***

A introdução do método de PAS (ácido periódico — Schiff) em histoquímica, por Mc Mannus (1) e Hotchkiss (2), foi imediatamente seguida pela sua aplicação na identificação de cogumelos nos tecidos lesados.

Kligman (3), utilizando o método de Hotchkiss-Mc Mannus com algumas variações, Starr, Dawe e Weed (4), Seabury, Peabody e Liberman (5), Kade e Kaplan (6), entre outros, evidenciaram perfeitamente as extraordinárias vantagens do método em questão.

Uma das principais vantagens do emprêgo desta técnica, consiste, segundo a maioria dos autores, na possibilidade de demonstrar parasitos não visíveis pelos métodos habituais de laboratório, ou seja possibilitar um diagnóstico preciso. Dados interessantes, foram fornecidos por Puckett (7), no estudo de granulomas pulmonares. Verificou êle, empregando o método de PAS, Histoplasma capsulatum em 22 lesões pulmonares, nas quais o cogumelo havia sido cultivado exclusivamente em uma única oportunidade.

Starr, Dawe e Weed (4), publicam uma interessante tabela, na qual demonstram os resultados de positividade, obtidos com o PAS e sem êste, em diversos casos, como passaremos a mostrar.

Cogumelos	*Total de casos*	*Casos positivos em exame histológico*		
		H.E.	*PAS*	*Total*
Blastomices (tipos norte e sul americanos).	15	9	5	14
H. capsulatum	18	11	5	16
C. immitis	20	6	9	15
C. neoformans	3	2	1	3
S. schenckii	5	2	1	3
Total	61	30	21	51

* Do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Atualmente no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. São Paulo.

** Técnica voluntária do mesmo Departamento.

*** Técnico de laboratório do referido Departamento.

* Entregue para publicação em 16-9-55.

O total de casos (61), representa aquêles que foram bacteriològicamente comprovados. Dessa maneira, de um total de 61 casos, 51 foram comprovados morfològicamente, com positividade nos tecidos. Dêsses 51, 30 o foram com hematoxilina eosina (H.E.), enquanto o método do PAS, além dêsses conseguiu identificar mais 21.

Seabury, Peabody e Liberman (5), mostraram entre vários casos, um exibindo típico aspecto de doença de Hodgkin quando corado pela hematoxilina-eosina. Após coloração pelo PAS, verificou-se a presença de focos característicos de Histoplasma capsulatum.

MÉTODOS

O método utilizado para o PAS, foi o seguinte: (8)

Preparo do reagente de Schiff:

a) Dissolver uma grama de fucsina básica em 200 cm^3 de água distilada fervendo. Esfriar até 50 gráus centígrados. Filtrar. Adicionar 10 cm^3 de ácido clorídrico normal (o ácido clorídrico normal deve ser preparado com muita precisão na proporção de 83.5 cm^3 de ácido clorídrico concentrado, de densidade 1.19 (36.7%) para 916.5 cm^3 de água distilada. Colocar duas gramas de metabisulfito de potássio. Deixar descorar pelo espaço de 24 horas. Adicionar, si necessário 0.5 c de carvão vegetal, agitar por 1 minuto e filtrar ràpidamente através de papel de filtro. A solução deve ficar amarelo-pálida, em caso contrário tentar com fucsina de outra procedência.

b) Técnica:

1 — Desparafinar os cortes, e hidratá-los de acôrdo com a técnica usual.

2 — Colocar em solução de ácido periódico a 1%, durante 10 minutos.

3 — Lavar em água distilada.

4 — Colocar no reagente de Schiff durante 15 minutos.

5 — Colocar diretamente, sem lavagens intermediárias, em 3 mudas de metabisulfito de potássio, solução preparada da seguinte maneira:
10.4 g % de metabisulfito de potássio (sol. estoque). Tomar 6 cm^3 desta solução e diluir em 114 cm^3 de água distilada (90 segundos em cada borrel desta solução).

6 — Lavar em água corrente durante 10 minutos.

7 — Corar os núcleos com hematoxilina de Lillie-Mayer.

8 — Realizar coloração de fundo de preferência com verde luz.

9 — Desidratar e montar.

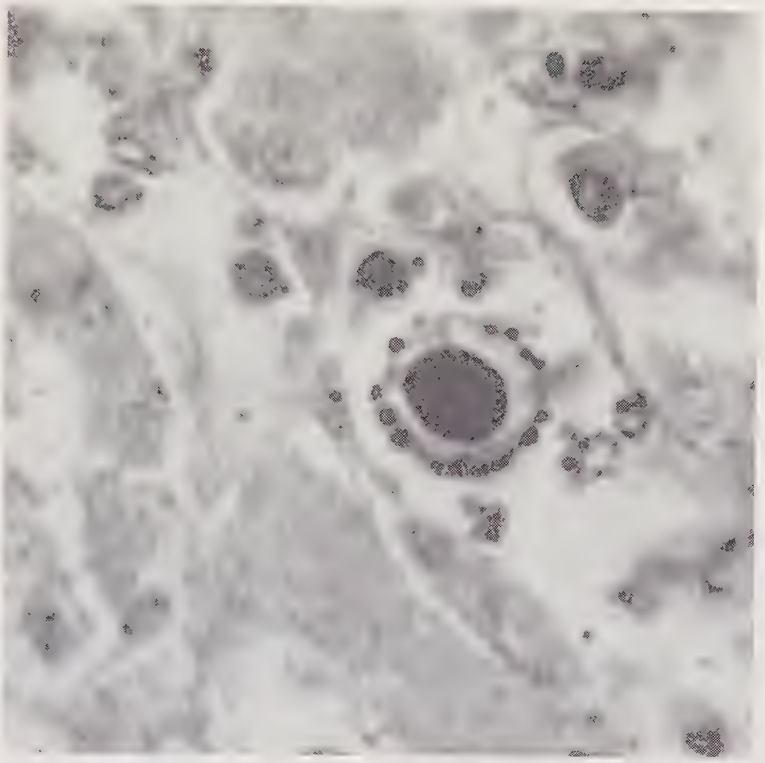


Fig. 1 — Blastomicose. x 800. Fígado. Col. PAS.

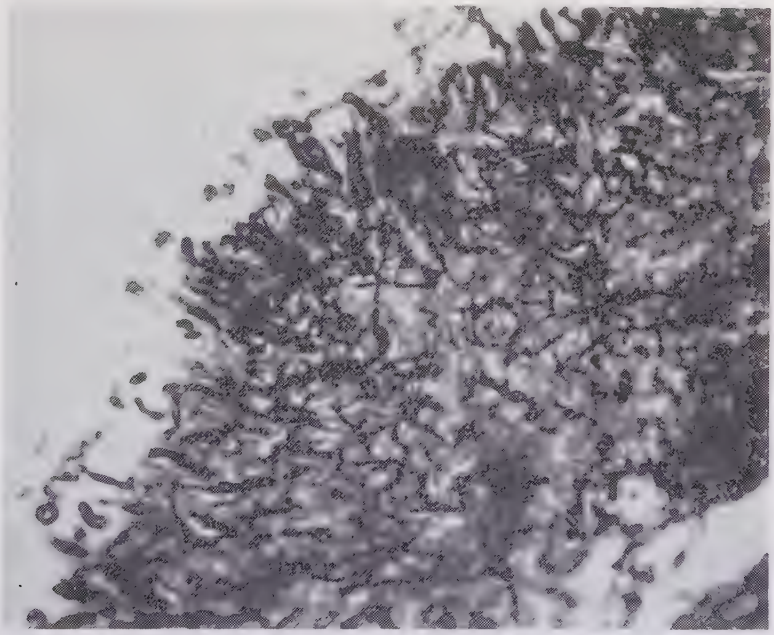


Fig. 2 — Blastomicose. x 800. Rim. Col. PAS.

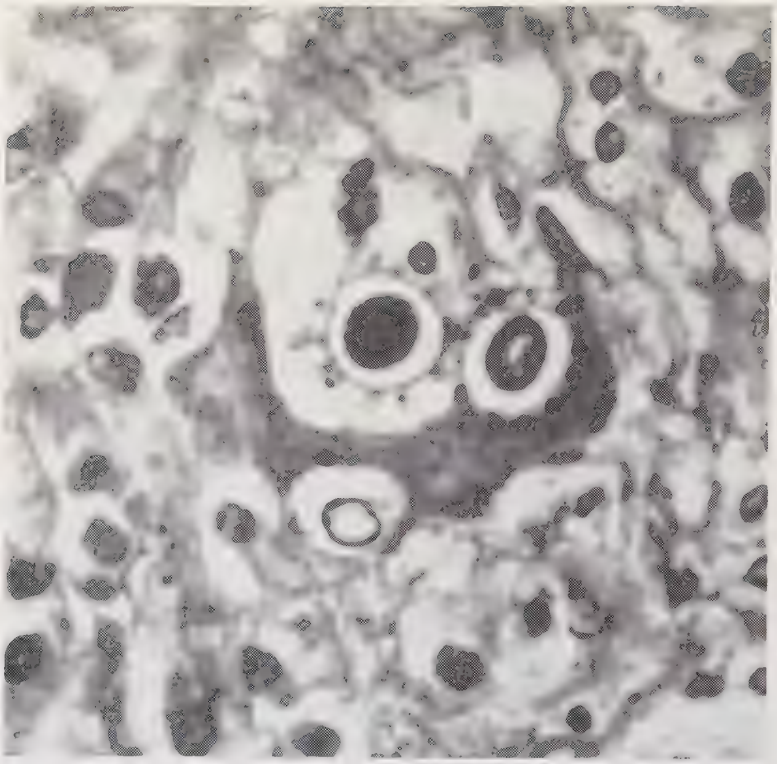


Fig. 3 — Blastomicose 800. Gânglio linfático. Col. PAS.

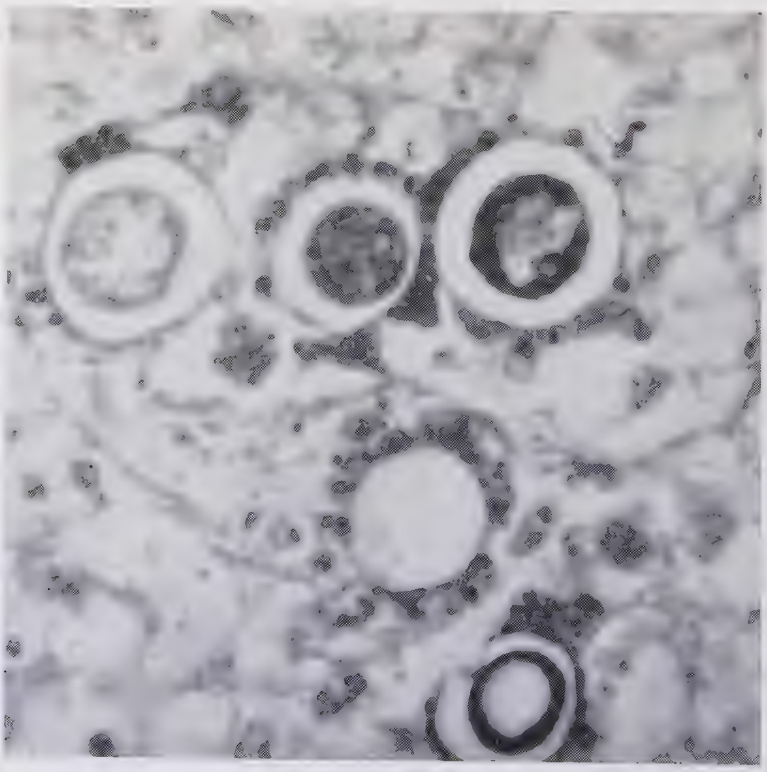


Fig. 4 — Actinomicose. Grão. x 320. Col. PAS

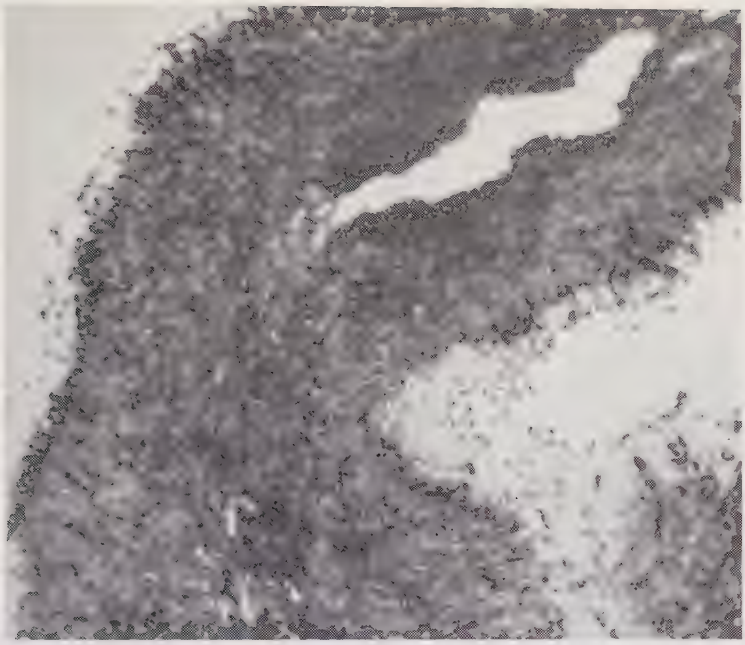


Fig. 5 — Actinomicose. Grão. x 120. Col. PAS.

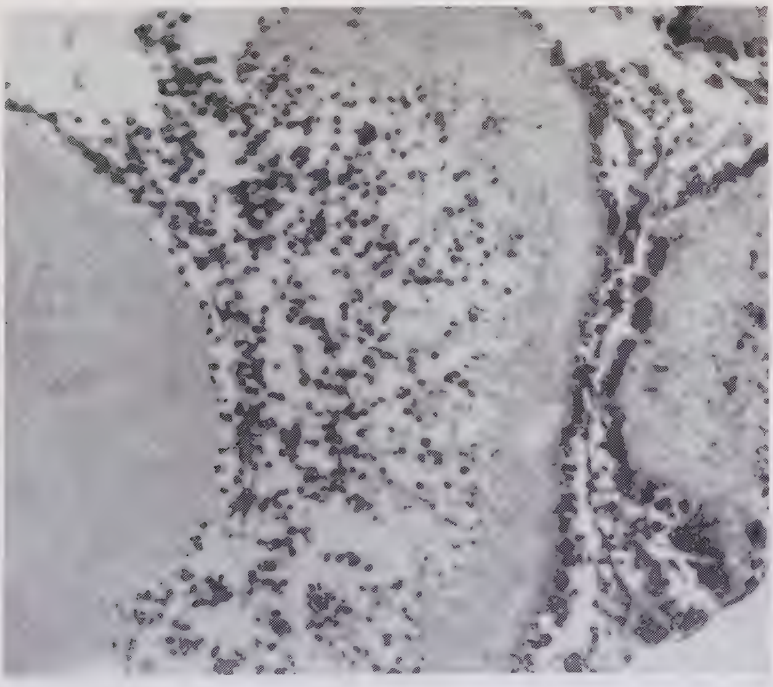


Fig. 6 — Actinomicose Grão. Hematonilina-eosina x 120

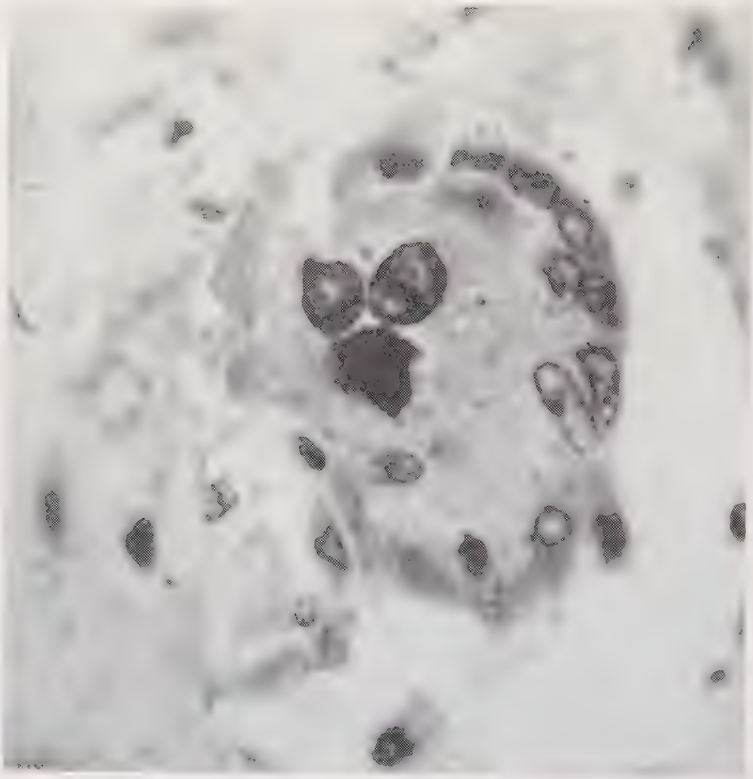
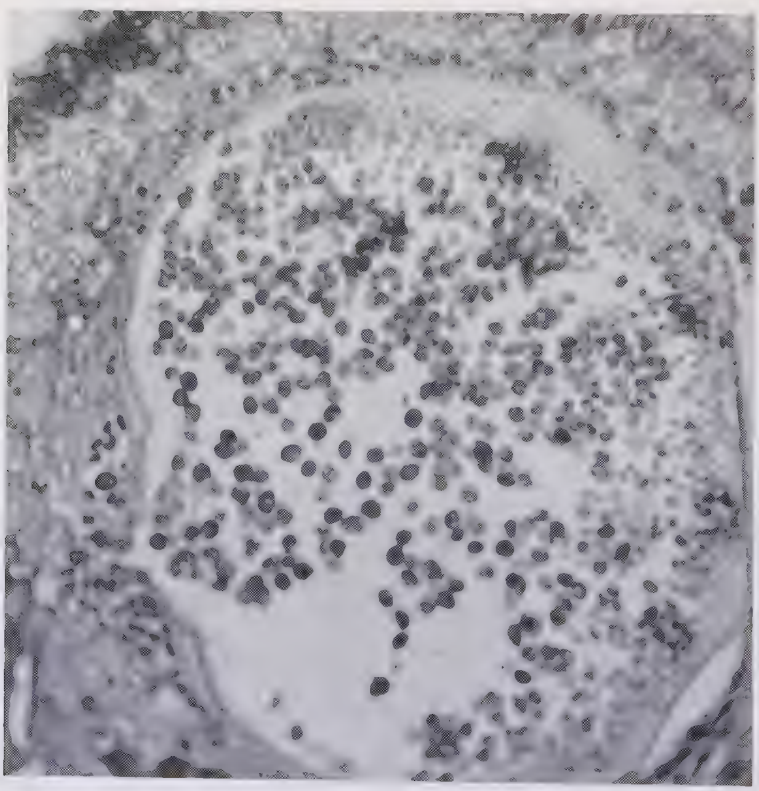


Fig. 7 — Cromoblastomicose. x 800. Pele. Col. PAS.



Rinosporidiáse. Polipo nasal. Col. PAS x 320.

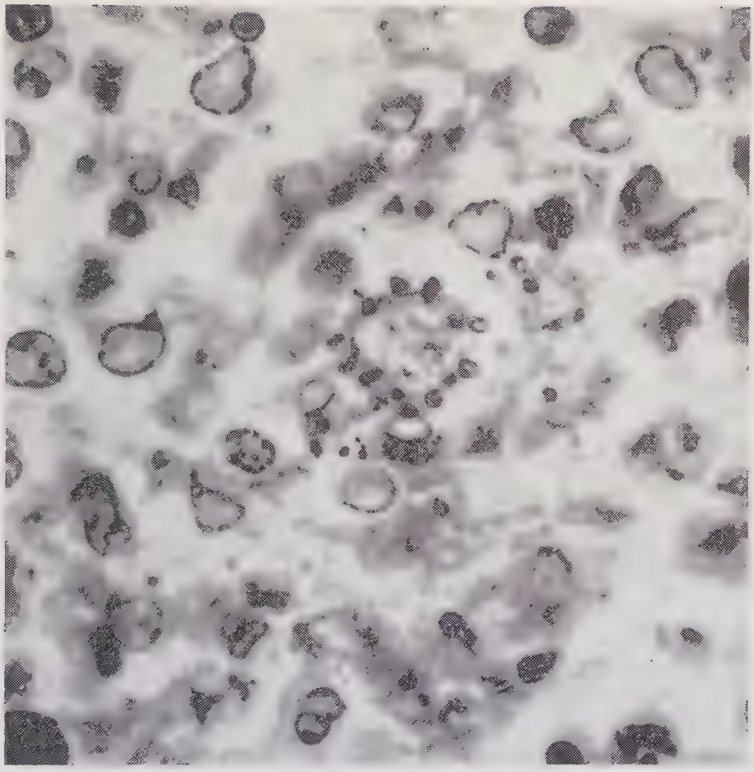


Fig. 9 — Criptococose

RESULTADOS

Com a técnica acima descrita, tivemos a oportunidade de observar, 6 casos de blastomicose sul-americana, 1 caso de rinosporidiose, 1 caso de criptococose, 2 casos de actinomicose e 1 caso de cromoblastomicose.

As fotografias exibidas a seguir, demonstram perfeitamente a nitidez dos cogumelos corados pelos PAS. comparando-se em um caso com preparação corada pela hematoxilina-eosina.

Blastomicose sul-americana.

Vemos nìtidamente em tôdas as fotografias apresentadas o aspecto característico de roda de leme, com as suas esporulações externas. O cogumelo em todos os tecidos sobressai acentuadamente, corando-se sua membrana de duplo contôrno em vermelho intenso, contra um fundo corado em verde.

Actinomicóse.

Em duas microfotografias apresentadas, vemos um grão actinomicótico corado pelo PAS, notando-se o enovelamento do micélio, e em certos pontos as características dilatações terminais. Em uma fotografia de preparação corada com hematoxilina-eosina, notamos infiltrado leucocitário, sendo todavia o micélio muito pouco nítido.

Cromoblastomicose.

Com o método de PAS, notamos no interior da célula gigante, dois cogumelos, um dos quais com dupla segmentação. No seu interior percebemos pequeninos filamentos corados em verde escuro pelo verde luz.

Rinosporidiose.

Em um corte de polipo nasal, vemos uma nítida membrana envolvente, com poro situado à esquerda. Os esporos apresentam-se muito nítidos, com uma divisão interna em pequenos compartimentos.

Criptococose.

Em um caso de meningite, verificamos corando-se pelo PAS, um cogumelo perfeitamente redondo, com membrana corada discretamente em róseo, sem aparentemente evidenciar uma estrutura interna.

DISCUSSÃO

O método de PAS, se baseia essencialmente no reagente de Schiff, o qual é preparado, descorando-se fucsina básica com ácido clorídrico e metabisulfito anidro. Esta fucsina-ácido sulforoso descorada, vai se combinar com os aldeidos. Quando esta combinação se realiza, o reagente se recolora pela adição de aldeido e si o aldeido é relativamente insolúvel, a substância que o contém poderá se corar, variando a intensidade

desde o róseo ao vermelho púrpura. Os cogumelos patogênicos e algumas bactérias contém material que, após oxidação, com ácido periódico, forma compostos adicionais corados com o reagente de Schiff.

A maioria dos autores, todavia, é de opinião, de que no caso dos cogumelos a coloração não é devida a uma reação histoquímica característica, e sim exclusivamente uma coloração de contraste, principalmente se utilizarmos o verde luz como corante de fundo, pois neste caso os cogumelos corados intensamente em vermelho, tornam-se mais nìtidamente visíveis.

Starr, Dawe e Weed (4), em recente publicação, concluem os seguintes fatos:

1 — O PAS é o melhor método para evidenciar os cogumelos patogênicos nos tecidos com reação granulomatosa. Deve, entretanto, ser considerado como um método auxiliar, pois muitas vêzes sòmente a cultura poderá nos dar o diagnóstico etiológico.

2 — É preciso grande cuidado, pois, algumas vêzes o método do PAS, pode produzir artefatos, fàcilmente confundíveis com histoplasma e esporótrico.

A nosso ver, o método do PAS, é um extraordinário auxiliar na identificação e no estudo morfológico dos cogumelos patogênicos produtores de micoses, deixando-se todavia, bem claro, de que o diagnóstico de espécie sòmente poderá ser realizado pela cultura do agente.

RESUMO

Os autores apresentam 6 casos de blastomicose sul americana, 2 casos de actinomicose, 1 caso de rinosporidiose, 1 de cromoblastomicose e 1 caso de criptococose, estudando os respectivos cogumelos responsáveis, pela coloração empregando o ácido periódico-Schiff. As vantagens dêste método para identificação e estudo morfológico são evidenciadas pelas microfotografias apresentadas.

SUMMARY

The authors present 6 cases of south american blastomycosis, 2 cases of actinomycosis, 1 case of rhinosporidiosos, 1 case of chromoblastomycosis and one case of cryptococcosis. They study the respective fungi employing the periodic-acid-Schiff reaction. The advantages of this method for identification and morphologic studies are seen through the photomicrographs in this paper.

BIBLIOGRAFIA

1. Mc Mannus, J.F.A., 1946, Histological demonstration of mucin after periodic acid. Nature, 158, 202.
2. Hotchkiss, R.D., 1948, A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Biochem.* 16 : 131-141.
3. Kligman, A.M., 1952, The diagnosis of Fungus infections with particular reference to staining methods. Progress in Fundamental Medicine. Lea & Febiger, Phila.
4 — Starr, G.F., Dawe, C.J. & Weed, L.A., 1955, Use of periodic acid — Schiff stain in identification of pathogenic fungi in tissues. *Am. J. Clin. Path.* 25 : 76.
5. Seabury, J.H., Peaboby, J.W. & Liberwan, M.J., 1954, The usefulness of the Hotchkiss — McMannus stain for the diagnosis of the deep mycosis. Diseases of the chest 25 : 1.
6. Kade, H. & Kaplan, L., 1955, Evaluation of staining techniques in the histologic diagnosis of fungi. *Arch. of Path.* 59 : 571-577.
7. Puckett, T.F., 1953, Pulmonary histoplasmosis: a study of twenty-two cases with identification of H. castulatum in resected lesions. *Am. Rev. Tuberc.* 67 : 453-476.
8. Lillie, R.D., 1948, Histopathologic technic. The Blakiston Co., Phila. and Toronto.

Presença de substâncias fisiològicamente ativas em culturas de E. Coli isolados das fezes de pacientes alérgicos pela técnica de Heist-Cohen

por

João Canali Corrêa F.º * — **Oswaldo Tarcisio Godoy** **

Em 1893 GILBERT demonstrou a existência de substâncias tóxicas solúveis nas culturas de Escherichia coli.

VICENT (1925) distinguiu duas toxinas, uma neurotrópica e outra enterotrópica. ACKERMANN (1910) assinalava a possibilidade de formação de histamina no transcurso da putrefação microbiana pela descarboxilização da histidina. KOESSLER & HANKE (1922) verificaram que a E. coli em meio ácido era capaz de produzir quantidade apreciável de histamina a fim de neutralizar o meio. Êstes trabalhos posteriormente foram confirmados pelas experiências de GALE (1940-1941) que verificaram a formação de histamina pela E. coli a partir da histidina pela descarboxilização dêste amino-ácido, observações estas, executadas por meio do aparelho de WARBURG. HALPERN & WALTHERT (1945) verificaram que o pH ótimo para a formação de histamina era de 5.

De um modo geral a formação de substâncias fisiològicamente ativas nas culturas de E. coli mereceu a atenção de numerosos investigadores e em nosso meio os trabalhos de XAVIER & PACHECO (1938 e 1939) verificaram que a toxicidade das culturas de E. coli corriam inversamente à formação de substâncias fisiològicamente ativas.

Dada a importância que representa a formação de histamina por parte dos germes intestinais como bem ficou evidenciado pelas experiências de LABORDE, PARROT, URQUIA (1953) na génese das manifestações alérgicas, executamos as presentes experiências com amostras de E. coli, isoladas com a técnica de Heist-Cohen nas fezes de pacientes portadores de manifestações alérgicas diversas, com a finalidade de verificarmos si as mesmas eram ou não dotadas de atividade fisiológica,

---

* Bolsista do Instituto Oswaldo Cruz.
** Auxiliar de pesquisas do Instituto Oswaldo Cruz.

posto que KOESSLER-HANKE restringiram esta atividade a sòmente algumas amostras. Assim é que das 29 amostras utilizadas por êstes autores, sòmente 6 foram capazes de produzir histamina a partir da histidina.

Nos pacientes estudados em nossas experiências, foram excluidos de participação tanto quanto possível, outros alergenos endógenos e exógenos a exceção da E. coli. Os pacientes em questão apresentavam as seguintes histórias clínicas sumarizadas: 564 — Sexo masculino, branco, 31 anos de idade. Colite há seis meses. Os ascendentes não eram portadores de manifestações alérgicas. A prova de Heist-Cohen nas fezes foi positiva para o E. coli. 719 — Sexo feminino, branca, 17 anos de idade. Urticárias há um mês. Os ascendentes não eram portadores de manifestações alérgicas. Prova de Heist-Cohen nas fezes positiva para E. coli. 734 — Sexo feminino, branca, 69 anos de idade. Eczema generalizado há um ano sujeito a remissões. Climatério aos 54 anos. Os ascendentes não eram portadores de manifestações alérgicas. Prova de Heist-Cohen nas fezes positiva para E. coli. 570 — Sexo masculino, branco, 40 anos de idade. Colite com surtos de urticárias há vários anos. Os ascendentes não eram portadores de manifestações alérgicas. Prova de Heist-Cohen nas fezes positiva para E. coli.

TÉCNICA

As amostras de E. coli isoladas pela técnica de Heist-Cohen (Segundo KOLMER e BOERNER 1938) das fezes dos pacientes acima referidos, foram semeadas em um meio de seguinte composição definida:

Água	100 cm^3
K_2HPO_4	0.2 grs.
Extrato de levedo Difco	0.5 grs.

Os germes semeados foram incubados por 7 dias a 37ºC findo os quais procedeu-se a centrifugação das culturas cujos sobrenadantes posteriormente foram ensaiados sôbre a preparação de ileo de cobaio, segundo técnica de Cohnheim-Magnus, modificada por LOHMAN (1912), conforme descrição abaixo:

Cobaio macho de 340 grs. de peso, com 24 hs. de jejum, foi sacrificado no momento da experiência. Imediatamente após a morte do animal a cavidade abdominal foi aberta largamente e das primeiras porções do intestino delgado foi excisada uma alça com ca. de 10 cm. de comprimento, logo imersa em líquido de Tyrode.

Um segmento de intestino de 4 cms. de comprimento era então suspenso em solução de Tyrode convenientemente oxigenada e mantida à temperatura constante (38ºC), durante todo o tempo da experiência. Esta preparação servia a vários ensaios, renovando-se de cada vez após um intervalo de 5 minutos a solução de Tyrode por meio de um frasco

de reserva, no qual o Tyrode era mantido também em temperatura constante (38ºC). Em cada ensaio o sobrenadante do centrifugado de cultura era adicionado à solução de Tyrode na qual já estava imersa a preparação. Os resultados eram registrados por meio de alavanca, em cilindro enfumaçado deslocando-se lentamente. A alavanca estava aparelhada para inscrição lateral e ampliava as contrações de 7 vezes. Cada cm. da abcissa do traçado corresponde a 10 segundos.

Dada a grande concentração de substâncias fisiològicamente ativas no meio, foi o mesmo diluido em Tyrode na proporção de 1 cm^3 do sobrenadante para 9 cm^3 de Tyrode, e desta diluição de 1 cm^3 de cada uma das amostras era colocada sobre preparação. A capacidade da cuba em que estava imersa a preparação era de 10 cm^3.

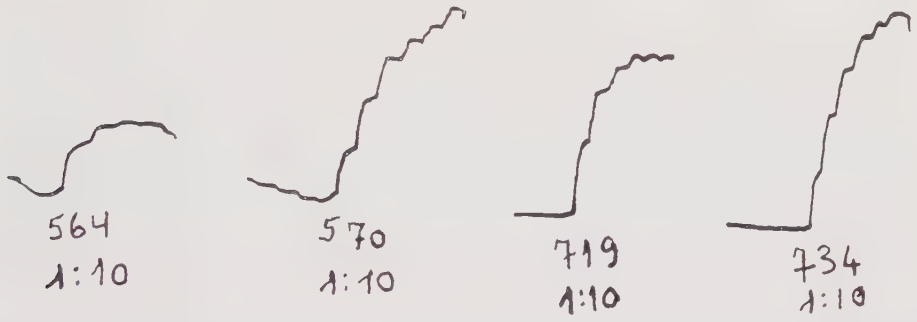


Fig. 1

Anàlogamente em outra oportunidade, 10 amostras diferentes de E. coli escolhidas ao acaso da coleção do Instituto Oswaldo Cruz e semeadas em meio idêntico ao mencionado, e incubadas durante 7 dias a 37ºC foram ensaiadas segundo a técnica acima descrita.

RESULTADOS

Tôdas as amostras ensaiadas de E. coli, isoladas pela técnica de Heist-Cohen das fezes de indivíduos portadores de manifestações alérgicas, foram capazes de produzir contração do ileo de cobaio conforme se pode ver na Fig. 1. O meio de cultura utilizado e que foi ensaiado na mesma ocasião, não demonstrou possuir nenhuma atividade sôbre a preparação.

Das 10 outras amostras de E. coli escolhidas ao acaso, sòmente 3 demonstraram possuir atividade fisiológica evidência esta, que vem confirmar as experiências de Koessler-Hanke que em 29 amostras experimentadas encontraram sòmente 6 amostras dotadas de atividade fisiológica.

Fig. 2 — W. A. 33 anos de idade. Branco. Sexo masculino (24-4-1952). Eczema crônico há 6 anos, de uma das mãos. Prova de Heist-Cohen nas fezes postivas para *E. coli*.

Fig. 3 — Aspecto tomado após o uso de Terramicina (250 mg) cada 6 h durante 6 dias.

Fig. 4 — O mesmo eczema visto por outro ângulo.

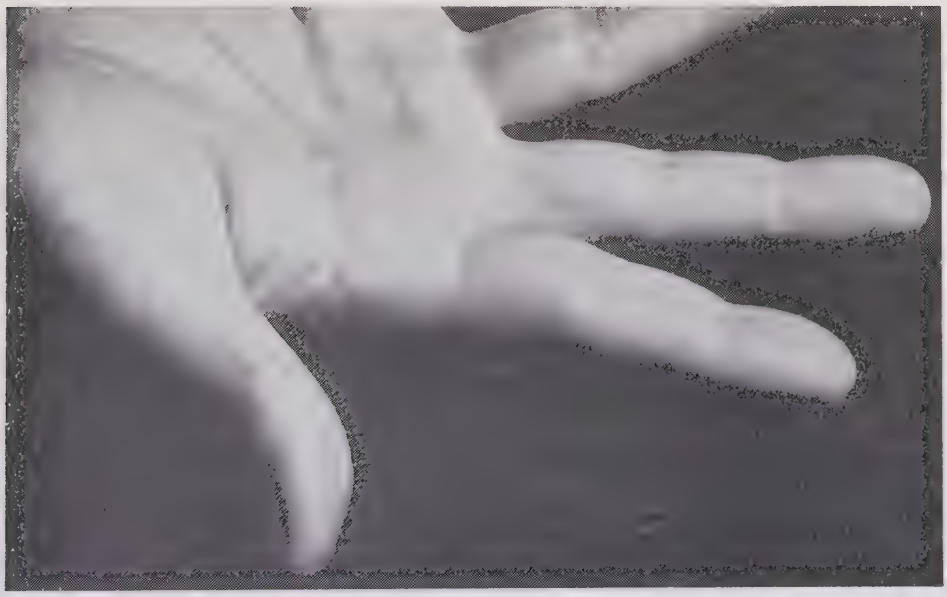


Fig. 5 — Aspecto tomado após o uso de Terramicina visto através o mesmo ângulo que a Fig. 4.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A importância da formação de histamina por parte de elementos da flora intestinal na produção de manifestações alérgicas, ficou bem evidenciada pelas experiências de LABORDE e colaboradores (1953).

KOESSLER e HANKE demonstraram que o E. coli é o principal elemento da flora intestinal na produção de histamina, porém, demonstraram também que nem tôdas as amostras de E. coli desfrutavam dêste atributo assim é que de 29 amostras experimentadas sòmente 6 apresentaram esta propriedade.

Os resultados acima consignados, sugere-nos muito embora o número de casos em aprêço fosse pequeno, que a reação de Heist-Cohen levada a efeito nas fezes foi capaz de isolar amostras de E. coli dotadas de atividade fisiológica, ocorrência esta, que veio demonstrar que as manifestações alérgicas apresentadas por êste grupo de pacientes, afastadas outras causas possíveis, eram decorrentes de duas ações ou sejam: por um lado a sensibilização ao germe indicada pela positividade da reação de Heist-Cohen como querem HARLEY (1952), SOLIS-COHEN (1936) e URBACH (1943) e por outro lado a produção de histamina por parte dêstes mesmos germes.

De acôrdo com as ações acima referidas como causadoras das manifestações alérgicas, podemos concluir que nos casos estudados, uma dessensibilização específica ao germe não é suficientemente rápida para que traga um alívio imediato aos pacientes. A nosso ver, e de acôrdo com que um de nós teve oportunidade de observar, o emprêgo de antibióticos (Terramicina) antecedendo a dessensibilização específica, tem proporcionado alívio relativamente rápido e eficaz em outros casos semelhantes. Um exemplo dêste tratamento pode ser visto nas Figs. 2, 3, 4 e 5.

SUMMARY

PRESENCE OF SUBSTANCES WITH PHYSIOLOGICAL ACTIVITY IN CULTURES OF E. COLI ISOLATED FROM STOOLS IN ALLERGIC PATIENTS BY THE HEIST-COHEN PATHOGEN SELECTIVE METHOD

Four patients with several allergic symptoms have been studied.

Heist-Cohen pathogen selective method was positive in feces of all these patients for E. coli. Other causes that could be responsible for the allergic symptoms were discarded.

Samplets after seeding in a medium physiologically inactive have been tested in guinea pig illea following Cohnheim-Magnus technique.

It was demonstrated that all samples isolated by the Heist-Cohen technique were physiologically active. (Fig. 1).

Ten other strains of E. coli taken at random from the collection of I.O.C. and tried according similar technique, brought evidence that only three samples possessed such activity. This confirms the works of KOESSLER-HANKE (1922).

In order to obtain a quick relief from allergic symptoms, one of us had employed in some others, identical cases an antibiotic (Terramycin, Chas Pfeizer) before the specific disensitization was done. (Figs. 2, 3, 4, 5).

Such method were choice since Laborde, Parrot, and Urquia (1953) have demonstrated the importance of production of histamine, from components of the bowel's flora in the production of allergic symptoms.

Deixamos aqui consignado os nossos agradecimentos aos Doutores Antônio Augusto Xavier e Oswaldo Cruz Filho pelo valioso auxílio técnico dispensado.

BIBLIOGRAFIA

Ackermann, D., 1910, *Hoppe Seyler's Zeitschr. f. physiolog. Chem.* ,65 : 504.

Gale, E.F. 1940, *Biochem. J.* 34 : 392.

Gale, E.F., 1941, *Biochem. J.*, 35 : 66.

Gilbert, A., 1893, *C. R. Soc. Biol.*, 45 : 214.

Halpern, B.N. & Walthert, C., 1945, *C. R. Soc. Biol.*, 139 : 365.

Harley, D., 1952, *Fortschritte der Allergielehre.* S. Karger.

Kolmer, J.A. & Boerner, F., 1938, *Approved Laboratory Technic.*

Koessler, K.K. & Hanke, M.T.J., 1922, *Biol. Chem.* 50 : 131.

Laborde, C., Parrot, J.L. & Urquia, D.A., 1953, *Presse Méd.* 61 : 1151 e 1267.

Lohmann, A., 1912, *Zeitschr. f. Biol. Technik u. Methodik,* 2 : 272.

Solis-Cohen, 1936, *Lancet,* 11 : 1447.

Urbach, E., 1943, *Allergy,* Grune Stratton, N.Y.

Vincent, H., 1928, *C. R. Acd. Sc.* 187 : 787.

Xavier, A.A. & Pacheco, G., 1938, *Mem. I. O. C.* 35 : 63.

Xavier, A.A. & Pacheco, G., 1939, In L. de H. Profs. Alvaro e Miguel Ozorio de Almeida.

Resistência do vírus da gripe à ação oligodinâmica da prata

por

J. Guilherme Lacorte, Estacio Monteiro e J. Carvalho Loures

A ação oligodinâmica de vários metais e especialmente da prata tem sido estudada em relação aos sêres vivos de um modo geral, em particular sôbre protozoários e bactérias. Dêsses estudos decorreu a aplicação prática, feita de diversas maneiras e muito divulgada, do emprêgo dessa propriedade na esterilização da água. Experimentalmente, no que diz respeito aos vírus, o terreno ainda não foi explorado, razão por que iniciamos as nossas pesquisas nesse sentido dando, com a presente nota, os resultados das nossas primeiras observações.

MATERIAL E MÉTODOS

Nas experiências aqui relatadas empregamos o vírus da gripe tipo A, amostra PR8, existente em nosso laboratório desde 1944, proveniente do Instituto Rockefeller de Nova York e desde aquela data mantido pelas passagens em embriões de galinha e camundongos brancos, menos em hamsters e furões. Outra amostra empregada foi a que denominamos DL/Rio, pertencente ao tipo A-primo, por nós isolada no decorrer do surto epidêmico que ocorreu no Rio de Janeiro em 1950/51 e desde aquela ocasião mantida do mesmo modo que a anterior. Essas amostras de vírus foram empregadas no líquido alantóide de embriões de 13 dias, inoculadas 48 horas antes, diretamente na cavidade alantóide. As amostras bacterianas usadas nas provas concomitantes foram a *Escherichia coli* e o *Micrococcus pyogenes* isoladas em nosso meio, ambas do homem, a primeira das fezes e a segunda de caso de furunculose. Têm sido mantidas em gelose simples. No que diz respeito à natureza da prata destinada a provocar o efeito oligodinâmico empregamos a que se encontra em recipientes especiais de barro, encontrados no comércio sob o nome de moringas esterilizantes. Nelas a prata se distribui, ora recobrindo a sua superfície interna ora, sob a forma de pó, misturada ao próprio barro. No primeiro caso, adere a êste, também sob as mesmas condições. Êsses recipientes são largamente disseminados em nosso meio destinado ao fim acima referido. Prestaram-se, de modo excelente, ao que pretendíamos sendo sòmente necessário, algumas vêzes, devido ao tempo prolongado das experiências, recobri-los com verniz, para evitar ou diminuir a evaporação. O vírus destinado a servir de testemunha

foi sempre retirado do mesmo lote de líquido alantóide e colocado em idênticos recipientes de barro, sem prata, uma vez em balão de vidro. A verificação prévia do poder esterilizante dessas moringas foi feito nelas se colocando a suspensão bacteriana em água estéril ou líquido alantóide. Os animais usados foram os camundongos brancos, da criação do Instituto Oswaldo Cruz, com a idade de 3 a 4 semanas. Empregaram-se 10 animais para cada diferente diluição do vírus ou cada prova. A inoculação foi feita por via nasal, na dose de 0,05 ml após anestesia do animal pelo éter. Anotaram-se os animais que morreram até o décimo dia e apresentaram, pelo exame necroscópico, lesões pulmonares características. As provas *in vitro* foram feitas pela reação de hemaglutinação, conforme a técnica de Hirst, empregando-se, para a sua execução, hemácias lavadas de galinha e diluições do líquido alantoide contendo vírus. No decorrer das experiências, o material contendo vírus foi sempre mantido na geladeira à temperatura de 3-5ºC.

RESULTADOS

Experiência n.º 1, de 9 de novembro de 1954.
Foram colocadas em moringa contendo prata e em moringa simples, sem prata, suspensões de *Micrococcus pyogenes* em água destilada.
Número de bactérias por ml pela contagem de colônias em placas de Petri com gelose simples, antes de colocar no recipiente .. 8000 *circa.*
Número de bactérias 48 hs. depois, na suspensão do líquido colocado na moringa com prata ..... 0 (Zero)
No líquido da moringa comum, sem prata, o número de colônias foi pràticamente idêntico.

Experiência n.º 2, de 11 de novembro de 1954.
Foram colocadas em moringa contendo prata e em moringa sem prata, suspensões de *Escherichia coli* em água destilada.
Número de bactérias por ml, antes de colocar no recipiente . 48.000 *circa.*
(Mesmo processo de verificação que para o caso anterior)
Número de bactérias, 48 horas depois, na suspensão do líquido colocado na moringa com prata ..... 0 (Zero)
No líquido da moringa comum, sem prata ..... 46.000 *circa.*

Experiência n.º 3, de 25 de setembro de 1955.
Foram colocados em moringa contendo prata e em moringa simples, sem prata, duas partes iguais do mesmo líquido alantóide contendo vírus da gripe, amostra DL/Rio e, em suspensão, *Micrococcus pyogenes.*
Número de bactérias por ml, antes de colocar no recipiente 220.000 *circa.*
(Mesmo processo de verificação que para os dois casos anteriores).
Número de bactérias, 24 horas depois, no líquido alantóide com o *Micrococcus pyogenes* em suspensão na moringa com prata ..... 0 (Zero).
No líquido da moringa comum, sem prata, aproximadamente o mesmo número de ..... 220.000 circa.
O líquido que serviu para esta experiência também serviu para verificar a atividade do vírus conforme se verá adiante.

As experiências acima vieram comprovar a ação oligodinâmica da prata sôbre as bactérias empregadas, mesmo quando em suspensão no líquido alantóide.

Experiência n.º 4, de 24 a 30 de agosto de 1954.
Foram colocadas em moringa contendo prata e em moringa simples, sem prata, duas partes iguais do mesmo líquido alantóide contendo vírus da gripe, amostra PR8, iniciando-se a verificação do seu poder patogênico para camundongos desde 30 minutos depois até 6 dias, conforme se poderá ver pelo quadro n.º 1, onde se registraram os animais mortos, podendo-se verificar que o vírus não se alterou, isto é, não sofreu a ação oligodinâmica da prata.

QUADRO 1

SÉRIE DAS INOCULAÇÕES VIRUS E DATA	Número das inoculações:	Diluição do vírus	TEMPO DE PERMANÊNCIA NO RECIPIENTE:		DIAS									
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
			Com prata	Sem prata	Número de camundongos mortos									
1	5679	1/10	30 minutos	—	—	—	2	—	—	2	1	3	—	—
PR8	5680	1/100	30 minutos	—	—	—	1	—	—	—	1	1	—	—
24-8-1954	5681	1/1000	30 minutos	—	—	—	—	—	—	3	—	—	3	—
2	5670	1/10	—	30 m nutos	—	—	—	—	—	4	—	—	—	5
PR8	5671	1/100	—	30 minutos	—	—	—	—	—	1	2	1	1	—
24-8-1954	5672	1/1000	—	30 minutos	—	—	—	—	—	1	—	—	—	4
3	5682	1/100	60 minutos	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—
PR8	5683	1/100	60 minutos	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—
24-8 1954	5684	1/1000	60 minutos	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	2
4	5673	1/10	—	60 minutos	—	—	—	—	—	2	—	—	—	
PR8	5674	1/100	—	60 minutos	—	—	—	—	—	1	—	—	—	
24-8-1954	5675	1/1000	—	60 minutos	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
5	5685	1/10	2 horas	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	1
PR8	5686	1/100	2 horas	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24-8-1954	5687	1/1000	2 horas	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
6	5676	1/10	—	2 horas	—	—	—	—	—	4	1	4	—	—
PR8	5677	1/100	—	2 horas	—	—	—	—	—	4	5	1	—	—
24-8-1954	5678	1/1000	—	2 horas	—	—	—	—	—	3	2	1	—	—
7	5704	1/10	2 dias	—	—	—	—	—	1	1	—	2	1	—
PR8	5688	1/100	2 dias	—	—	—	—	1	1	2	—	3	2	1
26-8-1954	5689	1/1000	2 dias	—	1	—	—	—	4	2	—	—	—	—
8	5690	1/10	—	2 dias	—	—	—	4	3	1	—	1	—	—
PR8	5691	1 100	—	2 dias	—	—	—	—	3	2	2	—	—	—
26-8-1954	5692	1/1000	—	2 dias	—	—	—	—	3	—	—	2	—	—
9	5696	1/10	3 dias	—	—	—	—	—	3	1	1	2	—	—
PR8	5697	1/100	3 dias	—	—	—	—	—	1	2	1	1	—	—
27-8-1954	5698	1/1000	3 dias	—	—	—	—	—	3	2	1	—	—	
10	5693	1/10	—	3 dias	—	—	—	1	1	2	2	—	—	—
PR8	5694	1/100	—	3 dias	—	—	—	2	1	—	—	—	—	
27-8-1954	5695	1/1000	—	3 dias	—	—	—	1	3	2	1	—	1	—
11	5706	1/10	6 dias	—	—	—	—	1	4	—	—	1	—	
PR8	5707	1/100	6 dias	—	—	—	—	—	1	3	2	1	—	—
30-8-1954	5708	1/1000	6 dias	—	—	—	—	—	—	1	—	4	—	—
12	5709	1/10	—	6 dias	—	—	—	2	1	1	—	—	—	—
PR8	5710	1/100	—	6 dias	—	—	—	—	2	2	2	—	—	—
30-8-1954	5711	1/1000	—	6 dias	—	—	—	1	—	4	—	1	1	1

Quadro demonstrativo do poder patogênico, para camundongos brancos, do vírus da gripe (amostra PR8), depois de submetido à ação oligodinâmica da prata, em comparação com os animais testemunhas. Experiência n.º 4.

Experiência n.º 5, de 12 a 19 de novembro de 1954.

Feita nas mesmas condições da anterior, porém com o tempo decorrido de 3 e 7 dias em séries repetidas e, como na experiência n.º 4, feitas as verificações em diluições do líquido alantóide desde 1 : 10 até 1 : 1000. Esta experiência confirmou o que se observara: o vírus manteve o seu poder patogênico para os camundongos depois de 7 dias de permanência no recipiente contendo prata, conforme se poderá ver no quadro n.º 2.

QUADRO 2

SÉRIE DAS INOCULAÇÕES VIRUS E DATA	Número das inoculações:	Diluição do vírus	TEMPO DE PERMANÊNCIA NO RECIPIENTE:		DIAS									
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
			Com prata	Sem prata	Número de camundongos mortos									
1	5837	1/10	3 dias	—	—	—	2	2	3	1	—	—	—	2
PR8	5838	1/100	3 dias	—	—	—	—	3	2	3	1	—	—	—
12-11-1954	5839	1/1000	3 dias	—	—	—	—	—	4	3	2	—	—	1
2	5840	1/10	—	3 dias	1	—	2	3	3	1	—	—	—	—
PR8	5841	1/100	—	3 dias	—	—	2	3	2	1	—	—	—	2
12-11-1954	5842	1/1000	—	3 dias	—	—	—	2	1	2	—	—	—	4
3	5846	1/10	3 dias	—	2	—	—	2	3	—	—	-	—	—
PR8	5847	1/100	3 dias	—	1	—	—	2	3	1	—	—	—	—
12-11-1954	5848	1/1000	3 dias	—	—	—	1	1	4	1	—	—	—	—
4	5843	1/10	—	3 ias	1	—	—	1	5	—	—	—	—	—
PR8	5844	1/100	—	3 dias	—	—	2	1	2	1	—	—	—	1
12-11-1954	5845	1/1000	—	3 dias	—	—	—	2	4	1	—	—	—	—
5	5849	1/10	3 dias	—	—	—	4	2	2	1	1	—	—	—
PR8	5850	1/100	3 dias	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
12-11-1954	5851	1/1000	3 dias	—		—	—	—	-	-	—	—	—	—
6	5852	1/10	—	7 dias	1	—	2	2	2	—	2	1	—	—
PR8	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16- 1-1954	—	—	—	—	-	—	—		—	—	-	-	-	—
7	5853	1/10	7 dias	—	—	1	—	—	4	2	1	1	—	—
PR8	5854	1/100	7 dias	—	—	1	—	1	6	1	—	—	—	—
19-11-1954	5855	1/1000	7 dias	—	—	—	—	1	3	1	1	—	—	—
8	5856	1/10	—	7 dias	—	—	—	—	1	2	2	3	—	—
PR8	5857	1/100	—	7 dias	—	1	—	2	2	2	1	1	—	1
19-11-1954	5858	1/1000	—	7 dias	—	—	—	2	1	2	2	1	1	1
9	5859	1/10	7 dias	—	1	—	—	1	1	1	1	2	1	2
PR8	5860	1/100	7 dias	—	1	—	—	—	2	2	1	—	—	—
19-11-1954	5861	1/1000	7 dias	—	—	—	—	—	4	2	1	1	—	—
10	5862	1/10	—	7 dias	—	—	—	—	1	1	2	1	—	1
PR8	5863	1/100	—	7 dias	—	—	—	3	1	2	3	—	—	—
19- 1-1954	5864	1/1000	—	7 dias	—	1	—	—	4	1	1	1	1	1
11	5865	1/10	7 dias	—	—	2	—	—	1	1	1	1	1	—
PR8	5866	1/1000	7 dias	—	—	—	—	—	2	4	2	1	—	1
19-11-1954	5867	1/1000	7 dias	—	—	—	—	1	6	1	—	—	—	—
12	5868	1/10	—	7 dias	—	—	—	—	1	3	2	1	2	1
PR8	5869	1/100	—	7 dias	—	—	—	3	2	4	1	—	—	—
19-11-1954	5870	1/1000	—	7 dias	1	—	—	4	1	1	—	—	—	—

Quadro demonstrativo do poder patogênico, para camundongos brancos, do vírus da gripe (amostra PR8), depois de submetido à ação oligodinâmica da prata, em comparação com os animais testemunhas. Experiência n.º 5.

Experiência n.º 6, de 30 de agosto a 5 de setembro de 1955.
Foram colocadas em moringa contendo prata e em moringa simples, sem prata e em balão de vidro, partes iguais do mesmo líquido alantóide contendo vírus da gripe, amostra DL Rio e mais o *Micrococcus pyogenes* na proporção de 220.000 por ml.
O tempo de permanência foi de 5 e 10 dias verificando-se do mesmo modo o nenhum efeito experimentado pelo vírus conforme se poderá ver no quadro n.º 3.

QUADRO 3

SÉRIE DAS INOCULAÇÕES VÍRUS E DATA	Número das inoculações:	Diluição do vírus	TEMPO DE PERMANÊNCIA NO RECIPIENTE:		DIAS									
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
			Com prata	Sem prata	Número de camundongos mortos									
1	6027	1/10	—	5 dias	1	—	—	1	—	—	—	—	—	1
DL	6028	1/100	—	5 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30-8-1955	6029	1/1000	—	5 dias	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
**														
2	6023	1/10	—	5 dias	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
DL	6024	1/100	—	5 dias	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30-8-1955	6025	1/1000	—	5 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
3	6020	1/10	5 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
DL	6021	1/100	5 dias		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30-8-1955	6022	1/1000	5 dias	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
*														
4	6017	1/10	—	5 dias	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
DL	6018	1/100	—	5 dias	1	—	—	—	—	—	1	1	1	—
30-8-1955	6019	1/1000	—	5 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
***														
5	6014	1/10	5 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2
DL	6015	1/100	5 dias	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
30-8-1955	6016	1/1000	5 dias	—				—	—	—			-	—
***														
6	6042	Puro	—	10 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
DL	6043	1/10	—	10 dias	—	—	—	—	1	2	—	1	—	—
5-9-1955	6044	1/100	—	10 dias	1	—	—	—	2	1	—	—	—	—
**														
7	6039	Puro	—	10 dias	1	—	—	—	1	—	—	—	1	—
DL	6041	1/10	—	10 dias	1	—	1	—	—	—	—	—	1	2
5-9-1955	6040	1/100	—	10 dias	—	—	-	-	—	—	—	—	—	—
8	6038	Puro	10 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
DL	6036	1/10	10 dias	—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—
5-9-1955	6037	1/100	10 dias	—	1	—	—	—	—	1	—	—	—	1
*														
9	6033	Puro	—	5 dias	—	—	—	—	—	—	1	—	—	2
DL	6034	1/10	—	5 dias	1	—	—	—	1	—	1	1	—	1
5-9-1955	6035	1/100	—	5 dias	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
***														
10	6032	Puro	5 dias	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	6
DL	6030	1/10	5 dias	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	3
5-9-1955	6031	1/100	5 dias	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	1

Quadro demonstrativo do poder patogênico, para camundongos brancos, do vírus da gripe (amostra DL/Rio), depois de submetido à ação oligodinâmica da prata, em comparação com os animais testemunhas. Experiência n.º 6.

* Só vírus.
** Recipiente de vidro. Só vírus.
*** Líquido contendo vírus e *Micrococcus pyogenes*.

Cumpre ressaltar, nesta prova, que o *Micrococcus pyogenes* junto ao líquido alantóide em nada alterou a atividade do vírus, quer na dosagem prévia quando ainda proliferou no meio de cultura na proporção acima indicada, quer depois de morto pela ação oligodinâmica. O vírus não se alterou quanto ao seu poder patogênico nem quanto à sua propriedade hemaglutinante, conforme a experiência n.º 9.

Experiência n.º 7, de 28 a 30 agosto de 1954.

Foram feitas reações de hemaglutinação com o líquido alantóide contendo vírus da gripe, amostra PR8, depois de ter permanecido de 30 minutos até 10 dias na moringa contendo prata e na moringa simples, sem prata. Os resultados mostraram-se praticamente idênticos para ambos os casos. A ação oligodinâmica não altera o poder hemaglutinante do vírus.

QUADRO 4

SÉRIE E DATA	TEMPO DE PERMANÊNCIA NO RECIPIENTE:		TÍTULO HEMAGLUTINANTE									
	Com prata	Sem prata	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
1 24-8-54	— 1/2 hora	1/2 hora —	4 4	4 4	4 4	4 4	3 3	2 2	1 1	1 1	1 1	1 1
	= 1 hora	1 hora —	4 4	4 4	4 4	4 4	3 3	2 2	1 1	1 1	1 1	1 1
	— 2 horas	2 horas —	4 4	4 4	4 4	4 4	3 3	2 2	1 1	1 1	1 1	1 1
2 26-8-54	— 2 dias	2 dias —	4 4	4 4	4 4	4 4	4 3	3 2	2 1	1 1	1 1	1 1
3 27-8-54	— 3 dias	3 dias —	4 4	4 4	4 4	4 3	3 2	2 1	1 1	1 1	1 1	1 1
4 30-8-54	— 6 dias	6 dias —	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 2	3 1	2 1	1 1	1 1
5 3-9-54	— 10 dias	10 dias —	4 4	4 4	3 2	2 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1

Quadro demonstrativo das reações de hemaglutinação com o vírus da gripe (amostra PR8), depois de submetido à ação oligodinâmica da prata, em comparação com as testemunhas. Os números 1, 2, 3 e 4 correspondem a +, ++, +++ e ++++. Experiência n.º 7.

Experiência n.º 8, de 22 de setembro a 6 de outubro de 1954.

Feita nas mesmas condições da anterior, porém com o tempo decorrido de 11 a 25 dias. Apesar do tempo de permanência ter sido bastante prolongado os resultados foram os mesmos do caso anterior.

QUADRO 5

SÉRIE E DATA	TEMPO DE PERMANÊNCIA NO RECIPIENTE:		TÍTULO HEMAGLUTINANTE									
	Com prata	Sem prata	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
1	—	11 dias	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
22-9-54	11 dias	—	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
2	—	17 dias	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
28-9-54	17 dias	—	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
3	—	25 dias	4	4	4	3	3	2	1	1	1	1
6-10-54	25 dias	—	4	4	4	3	3	2	1	1	1	1

Quadro demonstrativo das reações de hemaglutinação com o vírus da gripe (amostra PR8), depois de submetido à ação oligodinâmica da prata, em comparação com as testemunhas. Os números 1, 2, 3 e 4 correspondem a +, ++, +++ e ++++. Experiência n.º 8.

Experiência n.º 9, de 30 de agosto a 5 de setembro de 1955.

Foram colocadas em ambas as moringas como nos casos anteriores e mais em balão de vidro partes iguais de líquido alantóide contendo vírus da gripe, amostra DL Rio e, em número igual de moringas, o *Micrococcus pyogenes* morto pela ação oligodinâmica no que foi colocado na moringa contendo prata e vivo no da moringa comum. Em balão de vidro, sem as bactérias. Êste mesmo material serviu para a experiência n.º 6. Em nenhum caso observou-se alteração do poder hemaglutinante, conforme demonstra o quadro n.º 6.

QUADRO 6

SÉRIE E DATA	TEMPO DE PERMANÊNCIA NO RECIPIENTE:		TÍTULO HEMAGLUTINANTE									
	Com prata	Sem prata	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
1	—	5 dias**	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
30-8-55	—	5 dias*	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
	5 dias*	—	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
	—	5 dias***	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
	5 dias***	—	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
2	—	10 dias**	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
5-9-55	—	10 dias*	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
	10 dias*	—	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
	—	10 das***	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1
	10 dias***	—	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1

Quadro demonstrativo das reações de hemaglutinação com o vírus da gripe (amostra DL/Rio), depois de submetido à ação oligodinâmica da prata, em comparação com as testemunhas. Experiência n.º 9.

* Só vírus.

** Recipiente de vidro. Só vírus.

*** Líquido contendo vírus e *Micrococcus pyogenes*.

RESUMO E CONCLUSÕES

Tentamos verificar, em algumas séries de experiências a ação oligodinâmica da prata sôbre o vírus da gripe, tipo A, amostra PR8 e tipo A-primo, amostra DL Ric empregando, para tal fim, recipientes, ora recobertos internamente, em delgadíssima camada, pela prata metálica ora contendo-a, sob a forma de pó, de mistura com o próprio material que constitui as paredes do frasco. Neste foi colocado o líquido alantóide contendo vírus verificando-se, de tempos em tempos, o seu poder patogênico para camundongos brancos e a persistência do seu poder hemaglutinante. Pelos resultados acima expostos vê-se que o referido vírus nada sofreu pela ação oligodinâmica da prata, nas condições experimentais descritas ao passo que, concomitantemente a mesma teve efeito ràpidamente mortal para bactérias pertencentes às espécies *Micrococcus pyogenes* e *Escherichia coli*. Assim sendo, logo se destaca a importância do fenômeno observado sabendo-se, além do mais, que a ação oligodinâmica, letal ou nociva, se tem verificado sôbre os sêres vivos em geral. Verificamos ainda, no decorrer dessas experiências, que a junção de bactérias não alterou a atividade do vírus quer as mesmas se encontrassem vivas quer mortas.

As nossas pesquisas prosseguem com outros vírus, os mais diversos, cumprindo-nos salientar, desde logo, que o processo poderá ser empregado para o isolamento dêsses agentes conforme já o verificamos para o da gripe, em experiência acima descrita. Será uma das decorrências práticas da observação que fizemos, dependendo, as demais, de puro interêsse biológico, de investigações subseqüentes, baseadas na observação inicial que ora apresentamos.

RESISTENCE OF THE INFLUENZA VIRUS TO THE SILVER OLIGODYNAMIC ACTION

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In some experiments we tried to verify the silver oligodynamic action upon the influenza virus, A type, PR8 strain and A-prime, DL/Rio strain. In the tests we used clay pitchers covered in the inside part with a thin layer of silver or with powdered silver mixed into the clay material. The infected allantoic fluid was put into the pitcher and the pathogenic power for mice and the hemagglutination reaction verified at regular intervals. The results expressed in the tables indicated that no alterations were presented by the virus in comparison with the controls. Experiments made with *Micrococcus pyogenes* and *Escherichia coli* suspensions put into the pitchers with silver showed that the bacteria died in 24 to 48 hours. The reported phenomenon is important because we know that the oligodynamic effect is observed upon microorganisms like bacteria, protozoa and other living beings. The alive or dead bacteria didn't alter the referred properties of the virus.

We are stil investigating the phenomenon with other viruses and, now, we emphasize that it can be applied for the isolation of viruses as we verified for the influenza virus. This will be one of their practical applications. We think that many others, from the biologic point of view, may arise based on our first observation here presented.

Considerações sôbre a técnica de determinação do "Índice Lipásico Seabra"

por

M. I. Mello & Laura T. Queiroga
(Instituto Oswaldo Cruz & Conjunto Sanatorial de Curicica)
Rio de Janeiro, D.F. — Brasil

A existência de um poder lipolítico no sôro, foi assinalada por HANRIOT em 1896 (14). A esta diastase de pressuposta origem pancreática, denominou *Lipase* (15). No ano seguinte, porém, demonstrou que a lipase que se encontra normalmente no sangue, não provém do pâncreas, uma vez que a retirada dêste órgão não altera o teor da lipasemia. Verificou outrossim, que a atividade lipásica sôbre a monobutirina varia com a "alcalinidade do meio" e que a *lipase* pancreática é diferente da do sôro (16).

O têrmo *lipase*, foi criticado por ARTHUS, que empregando vários substratos, demonstrou que o enzima presente no sôro não tem poder lipolítico sôbre os óleos animais e vegetais formados de tripalmitina e triestearina, mas decompõe a monobutirina (3). Confirma assim a atividade do enzima do sôro sôbre monobutirina assinalada por HANRIOT e propõe que se denomine de *monobutirinase*, a diastase do sôro que desdobra a monobutirina (3) (6) (17).

A êste enzima presente no sôro e que desdobra a monobutirina e a tributirina e age sôbre ésteres simples (butirato de etila) OPPENHEIMER em 1925 classificou de esterases (25), ADAMS & WHITTAKER classificaram as esterases presentes no sôro de acôrdo com o substrato sôbre o qual agem, em 3 classes principais:

1) *Aliesterases ou esterases alifáticas*, as que hidrolisam a tributirina, butirato de metila, etc., e ésteres alifáticos.

2) *Colinesterases verdadeiras ou específicas*, as que hidrolisam a acetilcolina.

3) *Colinesterases não específicas*, as que hidrolisam tanto os ésteres de colina como os ésteres alifáticos (1).

As *lipases* catalisam a hidrólise de gorduras neutras, fosfolipides e ésteres de colesterol. Agem sôbre gorduras verdadeiras, óleos ou triglicérides de ácidos graxos contendo mais de 21 átomos de carbono.

Inúmeros autores (Doyon & Morel 1902 (8), Carrière, 1905, Lövenhart, 1907 (21), Rona & Michaelis, 1911 (28), Kollert & Frisch, 1921 (9), Willstätter & Memmen, 1924 (33), Cherry & Grandall, 1932 (7), Roe & Goldstein, 1943 (27), Adams & Whittaker (1), Meyer & Malgras, 1953 (24) e outros, confirmaram as experiências de Harriot e de Arthus, ficando *assim* as lipases e esterases bem definidas quer pela sua atividade enzimática bem diferenciada por meio de substratos, sua origem, usando ativadores e inibidores, que por seus caracteres físico-químicos (4), (12), (20), (34).

Apesar disto a denominação de *lipase*, continua a ser empregada indistintamente na literatura para designar o enzima presente no sôro humano normal. No sôro humano normal existem *esterases* que são responsáveis pela pequena hidrólise observada quando se usa óleo de olivas, *tweens* ou tributirina como substrato (13), (31), (2).

A lipase pode entretanto, aparecer no sangue sob condições patológicas. Os órgãos contém lipase. Quando um órgão é agredido (pulmão, bacilo de Koch; fígado, agentes tóxicos; distúrbios pancreáticos, etc.) a lipase é liberada para o sangue, podendo ser parcialmente determinada sua origem por meio de inibidores (quinino, atoxil, fluoreto de sódio) ou ativadores (sais e ácidos biliares, cloreto de cálcio e ácidos aminados, ex. leucilglicilglicina (Dawson 1927) etc.). (24), (26), (1), (20), (25), (28), (5).

Assim a lipasemia oferece sob o ponto de vista clínico um grande interêsse para o diagnóstico e prognóstico de certas doenças, e vários métodos têm sido propostos para a sua determinação.

Tomando o substrato como referência para um rápido apanhado das técnicas mais empregadas, citaremos: a de Rona & Michaelis, que usa a tributirina, (28) de Archibald (2) e Gomori (12) que empregam os *Tweens* (ésteres poliglicólicos do ácido esteárico); e por último as que utilizam o óleo de olivas, ex. Willstätter Leitz & Memmen, (1923) Lövenhart (21), Cherry & Crandall, (35), (7).

Várias críticas tem sido feitas aos dois primeiros substratos, pois que ambos são hidrolizados pelas esterases e lipases. Sendo o óleo de olivas o que menos sofre a ação das esterases é o substrato mais empregado pela maioria dos autores.

A determinação do *"Índice lipásico Seabra no diagnóstico da tuberculose"* despertou o nosso interêsse (23). Discrepâncias técnicas encontradas no correr das determinações, levou-nos a um estudo posterior do método, cujo resultado constitue o objeto do presente trabalho.

O "Índice lipásico Seabra" é determinado pela técnica de Cherry & Crandall ligeiramente modificada. Em vez do óleo de olivas, Seabra usa o óleo de caroço de algodão e como agente emulsificante a goma arábica (29).

Como o autor não esclarece sôbre o pH e sais do tampão e pH do substrato, procuramos inicialmente verificar:

a) pH de várias empolas da emulsão oleosa;
b) pH do tampão recentemente diluído e conservado durante um mês na geladeira;

c) pH do sistema; enzima — tampão — substrato;
d) ponto de viragem da fenolftaleína, determinando electromètricamente o pH inicial e final, da reação enzimática.

As determinações foram feitas em cada elemento observando-se as condições da técnica. Foi usada uma mistura de sôro humano normal e outra de soros de tuberculosos.

MATERIAL E MÉTODO

Empregamos o reagente Lipásico Seabra, que nos foi gentilmente fornecido pelo autor em épocas diferentes (4 caixas contendo 60 empolas da emulsão oleosa e 6 empolas do tampão (4 das caixas e 2 empolas sobressalentes).

REATIVOS

1) Emulsão oleosa em empolas de 5 ml.
2) *Soluto* tampão em empolas de 5 ml. Medir exatamente 5 ml e diluir em água distilada para 75 ml. Esta solução pode ser guardada para utilização ulterior.
3) Soda N/20 preparada no Laboratório e titulada no momento de usar, partindo de uma solução de soda N/1 livre de carbonato.
4) Álcool etílico neutro.
5) Fenolftaleina alcoólica 1%.

VIDRARIA

Entre os frascos reativos sugeridos pelo autor, usamos rotineiramente balões de Erlenmeyer de capacidade de 60 ml., em vez de tubos ou vidros de penicilina.

TÉCNICA

Seguimos a técnica exatamente como aconselha Seabra.

Em um balão de Erlenmeyer toma-se exatamente 1 ml. de sôro límpido, 2 ml. da emulsão oleosa bem homogeneizada, 3 ml. de água distilada e 0,5 ml. do soluto tampão. Agita-se bem e coloca-se na estufa a 37°C por 24 horas.

Ao mesmo tempo prepara-se um testemunha do mesmo modo que acima, substituindo-se o sôro por água distilada.

Após um período de 24 horas de incubação junta-se a cada frasco reativo 3 ml. de álcool etílico neutro e 1 gôta de fenolftaleína. Titula-se pela soda N/20.

CÁLCULO

ml. de soda gastos com o sôro — ml. de soda gastos com o testemunha multiplicado por 10 = "índice Lipásico Seabra".

No presente trabalho, o intuito foi de relacionar a influência do pH sôbre os resultados obtidos, o ponto de viragem e pH, uma vez que o autor julga indispensável para critério de viragem da fenolftaleína, que, a côr obtida seja igual à da amostra de pano, anexa à última técnica que acompanha a caixa.

RESULTADOS

a) *pH do substrato*:

As empolas foram homogeneizadas por agitação manual forte, e partidas no momento de usar.

Em um beaker foram pipetados cuidadosamente 2 ml da emulsão oleosa e 4,5 ml de água distilada para perfazer o volume total da

técnica. Misturou-se bem e a determinação do pH foi procedida imediatamente.

Os resultados das leituras constam da tabela I.

TABELA I

pH do reagente lipásico "Seabra"
(Emulsão oleosa)

EMPOLA N.º	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH..	6,0	6,2	5,8	6,1	6,25	6,2	62,5	6,1	6,25	6,4

Os números assinalados correspondem ao pH das várias misturas de empolas procedentes dos laboratórios do Hospital do Galeão, do posto de Saúde n.º 1 da Prefeitura e do Conjunto Sanatorial de Curicica.

Substrato: Interpretação dos resultados.

A análise dos resultados obtidos para as várias empolas de substrato, (max. pH 6,4 — min. pH 5,8) demonstra claramente ser êle passível das mesmas críticas feitas à emulsão de Cherry & Crandall, as quais enumeramos a seguir:

a) Usando goma arábica como agente emulsificante, e benzoato de sódio como estabilizador, a emulsão de Cherry e Crandall recentemente preparada tem pH 7,0, mas à medida que envelhece, êste vai se tornando ácido. O substrato em pH 7,0 já é abaixo do limite mínimo para a atividade da lipase do sôro, que segundo vários autores está entre 7,5 e 9,2, sendo considerado ótimo 8,5 (Quadro IV).

b) A tendência de formar quando em repouso duas camadas, uma aquosa e outra oleosa, dificulta o contato enzima/substrato, não se podendo precisar até que ponto isto afeta a hidrólise. No caso, uma agitação permanente durante o tempo de incubação seria o meio de mantê-la homogênea. Para corrigir estas falhas, Goldstein & Roe (10), Balls & Col (5), MacLay (22), Meyer & Malgras (24), sugerem o emprêgo da bile de boi em glicerol, o ácido cólico ou desoxicólico ou o oleato de sódio como agentes emulsificantes.

c) A viscosidade da emulsão, que dificulta a medida exata e o escoamento total e rápido da pipeta.

d) A instabilidade da emulsão oleosa e hidrólise espontânea e ocasional do óleo, bem como a diferença do índice de saponificação para cada partida de óleo Johnson e Bockus 1940) (18).

b) *pH do tampão.*

Da empola contendo o tampão, apresentada em envoltório de cartolina verde, foram pipetados, usando pipeta volumétrica, exatamente

5 ml para um provete graduado Pyrex. O volume foi completado para 75 ml com água distilada. O provete fechado foi agitado e o material diluído foi transferido para um vidro Pyrex com rôlha esmerilhada.

Dêste, tomou-se 0,5 ml. com pipeta de Folin e completou-se o volume para 6,5 ml com água distilada, e procedeu-se a determinação electrométrica do pH.

O vidro contendo o tampão foi guardado na geladeira e novas determinações foram feitas 1 mês após.

Ulteriormente a estas verificações, a técnica que acompanha a caixa do reagente Lipásico Seabra, sofreu modificações no seu tampão, cuja técnica de preparação é a que segue:

> Pipetar 5 ml do concentrado salino da empola, juntar 22,5 ml de *soluto aquoso incolor* de mertiolato 1% (à venda nas farmácias) e completar para 525 ml com água distilada. Guardar em vidro escuro e na geladeira.

Preparamos também êste *"tampão antisséptico"*, como denomina o autor o seu pH foi determinado como acima. Os resultados encontram-se no Quadro II.

TABELA II

pH do tampão de empolas diferentes; influência do tempo de diluição e geladeira; influência do mertiolato.

N.º AMOSTRA	1	2	3	4	5	6	7	8	8	10	11	12
pH dil. hora.....	6,7	6,25	6,7	6,25	6,4	6,8	6,25	6,9	6,7	6,9	—	—
1 mês gel.....	6,6	—	—	6,2	—	6,6	—	—	—	—	—	—
C/mertiol.....	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6,6	6,8

Interpretação dos resultados:

a) Já HANRIOT havia assinalado, e estudos posteriores vieram confirmar que a "alcalinidade do meio" é um fator importante para a ação hidrolítica da lipase. O pH 7,0 para o tampão, é o mais baixo referido na literatura (ver quadro IV) para ação da lipase do sangue.

b) Como se pode ver no quadro II, os valores encontrados para o "tampão salino Seabra", variam para cada empola. Os valores mais altos atingem pH 6,9. O mertiolato adicionado pràticamente não interfere no pH. As oscilações sofridas pelo tampão conservado na geladeira, são mínimas.

c) No quadro III sumariamos os resultados obtidos para cada elemento e para o sistema substrato/enzima/tampão preparado para incubar.

TABELA III

Determinação electrométrica do pH dos reativos antes de incubar o material.

N.º	Substrato ml	Água ml	Tampão ml	Álcool ml	pH 1x	Das 2x	Amostras 3x
1.....	—	6,5	—	—	6,9	6,7	6,9
2.....	—	6,0	0,5	—	6,9	6,82	6,8
3.....	2,0	4,5	—	—	6,1	6,25	6,4
4.....	2,0	4,0	0,5	—	6,7	6,75	6,8
5.....	—	6,5	—	3,0	5,5	6,78	7,32
Sôro 1 ml.....	2,0	3,0	0,5	—	7,4	7,35	7,25

O pH 7,4 foi o mais alto obtido usando os reagentes para a determinação do "Índice Lipásico Seabra".

Êstes valores foram obtidos por três técnicos diferentes, usando os reativos dos laboratórios do Hospital do Galeão, Pôsto de Saúde n.º 1 da Prefeitura e do conjunto Sanatorial de Curicica.

Ponto de viragem e pH electrométrico

O autor recomenda que o julgamento da viragem da fenolftaleína seja *exatamente o mesmo, com o tubo de sôro e o "Testemunha"*. Como o testemunha é preparado com água distilada em vez de sôro, e o método é titulométrico, torna-se difícil a comparação da côr.

QUADRO IV

AUTOR	Tampão pH	SUBSTRATO	Ano
Lövenhart (21).....	7,0	Butirato de etila.....	1907
Rona e Michaelis (28).....	7,6	Tributirina.....	1911
Willstaetter e Pollinger (35).....	8,9	Oleo de olivas.....	1923
Cherry e Crandall (7).....	7,0	Oleo de olivas.....	1932
Penau e Guilbert (26).....	8,4	Tributirina.....	1936
Balls, Matlack (4).....	8,0	Oleo de olivas.....	1937
Goldstein e Roe (27).....	8,9	Oleo de olivas.....	1943
Maclay (22).....	8,5	Oleo de olivas.....	1948
Goldstein, Epstein, Roe (11).....	9,6	Triburitina.....	1948
Gomori (12).....	8,3	Tweens.....	1949
Smith, Lubuf, Thornton (32).....	8,8	Tributirina.....	1949
Seligman e Machlas (31).....	7,4	α-naftillaurato.....	1950
Meyer e Malgras (24).....	8,5	Oleo de olivas.....	1953
Gomori (13).....	7,0	Oleo de olivas.....	1954

A fim de evidenciarmos se o ponto de viragem por nós observado correspondia ao ponto final da titulação, procuramos em uma série

de titulações, determinar electromètricamente o pH, ao atingir o ponto de viragem da fenolftaleína. Os resultados constam do Quadro V.

QUADRO V

Ponto de Viragem de fenolftaleina e pH lido

SORO N.º	1	2	3	4	5	6	7	8	8	Test. água
pH.....	9,65	9,6	9,65	9,72	9,72	9,8	9,8	9,8	9,7	9,55

a) A fenolftaleína, incolor em soluções ácidas, dá uma côr rósea em pH 8.3 indo até o avermelhado quanto mais alcalina fôr a solução. b) A faixa de mudança de côr da fenolftaleína é entre pH 8.3 e 10.65 (19). c) A comparação de côr, recomendada pelo autor entre o ponto de viragem do frasco testemunha e o contendo sôro torna-se difícil devido à pigmentação do sôro e à presença de proteínas.

Cherry & Crandall bem como todos os autores que trabalharam o método empregam no tubo contrôle, sôro inativado o que facilita a comparação. No caso Seabra o contrôle é feito com água distilada.

Como se pode observar no quadro V a leitura do ponto final de viragem foi sempre feito entre pH 9.5 e 9.8, o que demonstra que o êrro pessoal é pequeno uma vez que se atinge a viragem do indicador com mais de uma unidade acima do seu ponto inicial (pH 8.3).

Alguns autores ajustam o pH antes de iniciar a reação (Maclay inicial pH 8.5) (Goldstein et als inicial, pH 9.35) (11), (22). Os ml de NaOH 0.05N gastos para atingir o pH inicial após a incubação representam os de ácidos graxos liberados pela lipase.

Com os reagentes Seabra, o valor inicial foi pH 7.25-7.4, isto é, bem abaixo do limiar do indicador, e o final entre 9.55-9.8.

A determinação electrométrica do ponto inicial e final da reação, reduz a um mínimo os erros associados à titulação em meio heterogêneo.

CONCLUSÕES

Foi feito um estudo detalhado do "reagente lipásico Seabra".

1) *O Substrato,* emulsão oleosa de óleo de caroço de algodão emulsionada com goma arábica apresentou nas empolas examinadas, um pH sub-ótimo oscilando entre pH 5,8-6,4. As variações encontradas em empolas procedentes da mesma caixa e de caixas diferentes levam a pressupor: a) instabilidade da emulsão oleosa em goma arábica; b) hidró-

* Determinações realizadas pelos técnicos do Hospital do Galeão, Posto de Saúde n.º 1 da Prefeitura e do Conjunto Sanatorial de Curicica e Instituto Oswaldo Cruz em 30-31 de março de 1955.

lise espontânea do óleo; c) fontes diferentes de origem e preparação do óleo. Assim, as circunstâncias observadas em resultados obtidos para um mesmo sôro devem estar ligadas à variação dos pH das empolas.

2) O *tampão,* apresentou a mesma variabilidade de pH nas diferentes empolas estudadas, sendo também mais baixo que aquêle estabelecido por CHERRY & CRANDALL. Enquanto na técnica original é aconselhado o pH 7,0, o *"soluto salino"* fornecido para a determinação do "Índice Lipásico" oscila entre pH 6,25-6,9 para as amostras estudadas. O pH do tampão está abaixo do mínimo registrado na literatura para a determinação da lipase no sôro. (Ver quadro V).

3) *Ponto de viragem do indicador.*

A comparação colorimétrica do tubo testemunha com o do sôro em estudo, torna-se difícil, mesmo procurando correlacioná-lo com a amostra de pano que acompanha a caixa do reagente. O tubo testemunha é completado com água enquanto aquêle em que se determina o índice lipásico contém 1 ml de sôro. Se o ponto final de titulação em meio contendo proteínas, já apresenta por si só um problema na leitura da viragem, sua comparação com um contrôle de água distilada, acarretará maiores causas de êrro.

4) A técnica de CHERRY e CRANDALL modificada por SEABRA e aplicada ao sôro humano normal não evidencia lipase.

Deixamos aqui expressos os nossos agradecimentos aos Drs. ISMÉLIA ALVES VENÂNCIO e HUMBERTO TEIXEIRA CARDOSO pela determinação electrométrica do pH.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Ein ausfuehrliches Studium ueber das "Lipasische Seabra Reagent" wurde unternommen.

1) *Das Substrakt,* Baumwolloel mit Gummiarabikum emulsioniert, hat in den untersuchten Ampullen ein sub-optimales pH aufgewiesen, welches zwischen 5.8 und 6.4 schwankte. Die in den Ampullen einer selben cder verschiedener Packungen festgestellten Variationen lassen annehmen dass: a) eine Instabilitaet in der Oel-Gummiarabikum Emulsion herrscht; b) eine spontane Hydrolise des Oels stattfindet; c) das Oel verschiedener Herkunften auf verschiedene Weisen zubereitet wird. Es ist also anzunehmen, dass die beobachteten Ungleichheiten in den Ergebnissen eines gleichen Serums der pH-Variation in den Ampullen zuzuschreiben ist.

2) *Das Buffer,* hat dieselbe pH-Variation in den studierten Ampullen aufgewiesen und zwar war auch dieses niedriger als das von CHERRY & CRANDALL aufgestellt worden ist. Waehrend in der Originaltechnik von S. & C. ein pH von 7.0 empfohlen wird, hat die salzige Loesung die uns zur Feststellung des lipasischen Titers gestellt wurde, eine pH-Variation aufgewiesen die zwischen 6.25 und 6.9 geschwankt hat. Das

pH des Buffers ist kleiner als das niedrigste welches in der Literatur fuer die Lipasedosierung des Serums angegeben wird.

3) *Wendungspunkt des Indikators* — Der kolorimetrische Vergleich der Testisroehre mit der des Serums ist erschwert, selbst wenn man versucht ihn mit dem Stoffmuster, das sich bei der Packng des Apparates befindet, zu vergleichen. Die Testisroehre wird mit Wasser aufgefuellt waehrend die andere, in welcher man den lipasischen Titer feststellt, 1 ml Serum enthaelt. Wenn schon der Endpunkt des Titration in einem Protein enthaltenden Medium Schwierigkeiten bei der Feststellung des Wendungspunktes aufweist, so verursacht dieser Vergleich, wenn er mit einer destillierten Wasser-Roehre angestellt wird, eine viel grossere Moeglichkeit von Fehlerquellen.

4) Die von Cherry und Crandall aufgestellte Technik zeigt keine Lipase an, wenn sie fuer das normale menschliche Serum angewendet wird. Die leichte Hydrolise die stattfindet ist der Estearase zuzuschreiben.

ABSTRACT

A detailed study of Seabra's lipasic reagent for the diagnostic of tuberculosis has been made.

Substrate

The oily emulsion of cotton seed oil containing gum as dispersing agent, presented a pH variation to the ampoulles examined. In these belonging to the same cartoon as well as in those from different cartoons the values obtained electrometrically ranged from pH 5.8-6.4 (Table I).

These variations lead us to presuppose:

1) instability of the oily emulsion in gum;
2) spontaneous hydrolysis of the oil;
3) different batches or technique of the oil extraction, or different sources.

Buffer:

The same variability observed with substrate was found for the buffer. In Cherry & Crandall's method the buffer is pH 7.0. The *saline solution* from Seabra's oscillated from pH 6.25-6.9 (table II).

Titration — end point

A colorimetric comparison between the sample and the blank as suggested by Seabra becomes very difficult. The end point in the presence of serum, when phenolphtalein is used as indicator, is very difficult to compare with the blank containing water.

Conclusion.

The differences observed in the results when the same serum was used, must be due to the variations observd with Seabra's reagents.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams, D.H. & Whittaker, V.P., 1949, The characterization of the esterases of human plasma. *Bioch. J.* 44(1) : 62-70.
2. Archibald, R.E., 1946, Determination of lipase activity. *J. Biol. Chem.* 165 : 443
3. Arthus, M., 1902, Sur la monobutyrinase du sang. *J. Physiol. Pathol. Gén.* 4 : 56-68.
4. Balls, A.K., Matlack, M.B. & Tucker, M.W., 1937, The hydrolysis of glycerides by crude pancreas lipase. *J. Biol. Chem.* 122(1) : 125-137.
5. Balls, A.K. & Matlack, M.B., 1938, Mode of action of pancreatic lipases *J. Biol. Chem.* 125(3) : 679-686.
6. Bernhard, A., 1951, Serum lipases (tributyrinase) in hypertension and arteriosclerosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 78(2) : 533-55.
7. Cherry, I.S. & Crandall, L.A., 1932, The specificity of pancreatic lipase: its appearance in the blood after pancreatic injury. *Am. J. Physiol.*, 100(2) : 266-273.
8. Doyon, M. & Morel, A., 1902, La lipase, existe-t-elle dans le sérum normal? *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 498-500 e 614-615.
9. Frisch, A. & Kollert, V., 1921, Die sogenannten Blutlipasen bei Tuberkulose. *Beit. Klin. Tuberk.*, 47 : 146-159.
10. Goldstein, N.P. & Roe, J.H. 1943, Studies on pancreatic function. I. The determination of the lipodolytic enzymes of blood serum. *J. Lab. Clin. Med.*, 28(11) : 1368-79.
11. Goldstein, N.P., Epstein, J.H. & Roe, J.A., 1948, Studies on pancreatic function. IV. A simplified method for the determination of serum lipase using aqueous tributyrin as substrate with one hundred normal values by this method. *J. Lab. Clin. Med.*, 33(8) : 1047-51.
12. Gomori, G., 1949, Determination of phenol in biological material. *J. Lab. Clin. Med.*, 34 : 275-81.
13. Gomori, G., 1954, Methods for quantitative estimation of hydrolytic enzymes in serum and other biologic fluids. *A. J. Clin. Pathol.* 24(1) : 99-110.
14. Hanriot, 1896, Sur un nouveau ferment du sang. *C. R. Acad. Sci.* 123 : 753-5.
15. Hanriot, 1897, Sur la dosage de la lipase. *C. R. Soc. Acad. Sci.*, 124 : 235-7.
16. Hanriot, 1897, Sur la non-identité des lipases d'origine différénts. *C. R. Acad. Sci.* 124 : 778-81.
17. Hoare, R. & Tuba, J., 1951, Human serum tributyrinase III — Levels in cancer. *J. Lab. Clin. Med.*, 38(4) : 613-6.
18. Johnson, Th. A. & Bockus, H.L., 1940, Diagnostic significance of determination of serum lipase. *Arch. Intern. Med.*, 66(1) : 62-77.
19. Kolthoff, I.M., 1926, *Der Gebrauch von Farbenindikatoren.* 3.ª Ed. Berlin.
20. Lövenhart, A. S. & Pierce, G., 1906, The inhibiting effect of sodium fluoride on the action of lipase. *J. Biol. Chem.*, 2 : 397-413.
21. Lövenhart, A.S., 1907, Are the animal enzymes concerned in the hydrolysis of various esters, identical? *J. Biol. Chem.*, 2 : 427-60.
22. Maclay, E., 1948, A suitable substrate for the determination of pancreatic lipase in serum and other body fluids. *A. J. Med. Technol.*, 14(4) : 197-201.
23. Mello, M.I., Queiroga, L.T. & Marcchesi, P., 1955, "Indice Lipásico Seabra". Seu valor no diagnóstico da tuberculose. Em impressão.
24. Meyer, J. & Malgras, J., 1953, Contribution à l'étude des lipases dans le sérum tuberculeux. *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 137(19/20) : 292-4.

25. Oppenheimer, C., 1925, *Die Ferments und ihre Wirkungen*. 5.ª Ed. Thieme/ Verlag/Leipzig. pags. 229-47, e 466-97.

26. Penau, Guilbert, 1936, Determination de l'activité en lipase et esteráse du sérum sanguin. *J. Pharm. Chim.*, 23(2) : 57-77.

27. Roe, J.H. & Goldstein, N.P., 1943, Studies of pancreatic function. II. The effect of injury to the pancreas or the liver upon the amylase and lipidase content of the blood. *J. Lab. Clin. Med.* 28(11) : 1334-44.

28. Rona, P. & Michaelis, L., 1911, Über Ester und Fettspaltung im Blut und im Serum., *Bioch. Zeit.*, 31 : 345-54.

29. Seabra, P., 1954, Lipase e Tuberculose. *A Folha Médica*, 35(21) : 173-7.

30. Scoz, G., 1940/41, Cit. em *The Enzymes*. Vol. 1, p. 1, pag. 400, Summer J.B. e Myrbäck K., Academic Press 1952.

31. Seligman, A.M. & Nachlas, M.M., 1950, The colorimetric determination of lipase and esterase in human serum. *J. Clin. Invest.*, 29(1) : 31-6.

32. Smith, L.B., Lubert, D.J. & Thornton, H.R., 1949, Estimation of Lipase in dairy products. *Canad. J. Res.* 27(12), sec. F. 483.

33. Willstätter, R. & Memmen, F., 1924, Vergleich von Leberesterase mit Pankreaslipase, über die stereochemische Spezifität der Lipasen. *Zeit. Physiol. Chem.*, 138 : 216-316.

34. Willstätter, R. & Memmen, F., 1924, Über die Wirkung der Pankreaslipase auf berschiedene Substrate. VI. *Zeit. Physiol. Chem.*, 133 : 229-46.

35. Willstätter, R., Waldschmidt-Leitz, R. & Memmen, F., 1923, Bestimmung der Pankreatischen Fettspaltung. I. *Zeit. Physiol. Chem.*, 125 : 93-131.

Alterações neuropatológicas pela toxina brucelosa

por

Genésio Pacheco, Paulo Elejalde & Fridolin Schlögel
(Instituto Oswaldo Cruz)

Quase todos patologistas referem na enumeração dos sintomas da brucelose predominância dos de natureza nervosa, independente das formas essencialmente nervosas reunidas nas monografias de Roger & Poursines (10), e de Valenti (11), e resultantes da localização das brucelas no sistema nervoso. Mais recentemente Harris vem salientando sintomas daquele tipo em várias publicações (3, 4).

Anteriormente Nunno (6) procurou observar em coelhos infectados artificialmente, ou injetados com suspensões de brucelas mortas, alterações patológicas do sistema nervoso, adiante comentadas.

De algum tempo vimos tentando obter toxina de brucelas, para estudar seu efeito *in-vivo*. Nas atuais experiências utilizamos vários produtos de brucelas, na sua influência sôbre o sistema nervoso:

1) *Filtrados de cultura* — Culturas em caldo Albimi de uma fonte virulenta de *Brucella abortus,* foram mantidas na estufa a 37º, durante 4 dias. Verificada a pureza foram filtradas em filtro Seitz Ek. Após a filtração os líquidos eram conservados em geladeira, sob toluol.

2) *Extratos de germes* — Suspensões em água fisiológica, de culturas em garrafas de Roux com agar, incubadas por 48 horas, lavadas por sedimentação forçada e ressuspensas, eram passadas para frascos com pérolas de vidro e agitadas durante algum tempo, para homogeneizar. Filtradas em algodão, eram distribuidas em frascos aos quais se ajuntava volume a volume:

a) éter sulfúrico
b) acetona
c) mistura éter-clorofórmio
d) água destilada.

Submetidos à agitação mecânica durante 24 horas, eram as misturas postas a congelar e descongelar 6 vêzes sucessivas. A seguir a camada de substância extratora era passada para tubo estéril, posta a evaporar em vácuo e o produto ressuspenso depois em água destilada no volume original.

Entregue para publicação em 21-9-55.

Com êsse material procuramos verificar o efeito sôbre o sistema nervoso em camundongos.

Os líquidos obtidos (filtrados e extrátos), foram injetados nas doses de 0,25 e 0,50 ml, por via peritonial ou venosa, não por via cerebral para evitar lesões traumáticas sôbre o sistema nervoso. Observavam-se os animais durante 10 dias, e dos mortos durante o tempo de observação, ou sacrificados ao término dêsse tempo, extraía-se o cérebro que era dividido em 3 porções, fixadas em formol a 10%, álcool a 95º, em líquido de Cajal, e corados pelos métodos: cresyl-violeta de Spielmeyer, para mielina; H. E. Gomori, para tecido conjuntivo; impregnações argênticas de Rio-Hortega (núcleo-plasmático-nuclear, a quente, técnica para micro e macroglia e dupla impregnação para fibras nervosas).

I) Experiências com filtrados:

a) Injetados por via venosa.

As lesões encontradas consistiram em células nervosas de aparência normal, em algumas áreas, apresentando em outras fenômenos regressivos em diversos graus, desde a presença de vacúolos no protoplasma, com núcleo de aspecto normal, até imagens de doença celular grave (dissolução). Elementos microgliais apresentando alterações degenerativas em início — hipertrofia e alongamento celulares. Astrocistos com aspecto normal, bem como vasos e meninges (Fig. 1).

b) Injetados por via peritonial — Lesões encontradas: meninges e vasos com aspecto normal. Células nervosas profundamente alteradas, em diferentes graus de regressão, com protoplasma vacuolado, sinais de doença celular aguda. Neuroglia, astrocistos e oligodendrócitos com aparência normal. Elementos gliáticos discretamente hipertrofiados.

c) Testemunhas, injetados com caldo Albimi puro. Não havia alterações na estrutura parenquimatosa do cérebro.

II) Experiências com extratos de germes.

1) Extratos com éter.

a) Injetados por via venosa:

Meninges mostrando em alguns pontos infiltração por células redondas. Vasos congestos. Infiltração focal perivascular por elementos mononucleares. Células de Purkinge apresentando sinais de tumefação (doença celular aguda). Astrocistos com aspecto habitual. Oligodendrocitos demonstrando tumefação hidrópica. Fibras nervosas afastadas, dando aparência de edema na substância branca (Fig. 2). Microglia inalterada.

b) Injetados por via peritoneal:

Meninges com aspecto normal. Vasos congestos. Células de Purkinge com tumefação aguda. Fibras nervosas separadas por edema. Oligodendroglia com tumefação hidrópica. Astrocistos mostrando nalguns pontos clasmatodendrose. Microglia difìcilmente impregnável (Fig. 3).

2) Extratos com acetona

c) Injetados por via venosa:

Meninges de aparência normal. Vasos congestos. Células de Purkinge inalteradas. Fibras nervosas separadas por edema. Oligodendroglia com tumefação hidrópica. Astrocistos discretamente hipertrofiados. Microglia sem alterações.

d) Injetados por via peritonial:

As lesões se superpoem às observadas em c.

e) Testemunhas — injetados com germes suspensos em água destilada, congelados e descongelados 6 vêzes consecutivas, separados os germes por centrifugação, o sobrenadante injetado em camundongos por via venosa e peritoneal, nas mesmas doses acima.

1) por via venosa:

Meninges de aspecto normal. Congestão vascular. Edema da substância branca. Células piramidais de aparência normal. Oligodendroglia com tumefação hidrópica. Astrocistos e microglia de aparência normal.

2) por via intraperitoneal.

Lesões superponíveis a 1.

DISCUSSÃO

Apresentam as brucelas afinidade para certos órgãos ou tecidos, nos quais promovem lesões bem estudadas por Arias (1), Braude & Anderson (2), Mazza & Jorg (5) e outros mais. Dependem tais alterações da colonização nos tecidos ou órgãos, o que vale dizer da presença de germe e de produtos de seu metabolismo. Sôbre o tecido nervoso pròpriamente, sòmente Nunno assinala a existência de lesões observadas em coelhos inoculados experimentalmente com brucelas, vivas ou mortas e examinados vários meses após. As alterações encontradas por êle consistiram em tumefação da parede vascular, aumento dos espaços linfáticos com linfocitose e trombose dos vasos. Neuroglia aparentemente normal e aumento de volume das células satélites da camada de células piramidais. Mais acentuadas se mostraram nas células gangliais e nas células piramidais pequenas e médias, as quais se apresentavam profundamente lesadas — núcleo tumefeito, nucleolo apagado, protoplasma espumoso e de limites indefinidos. Entre elas havia infiltração de pequenas células extensivas à camada das grandes células piramidais. Desaparecimento das granulações, deformações e tumefações nucleares de vários tipos e vacuolização do protoplasma, foram também observados. Redução do número das fibrilas e sua segmentação. Portanto, cromatolise, cariolise, destruição das neurofibrilas e do retículo, infiltração leucocitária.

As alterações observadas por Nunno tanto o foram nos animais injetados com culturas vivas quanto com suspensões de germens mortos. Excluiu êle a influência traumática pelo longo tempo decorrido (mêses) entre a introdução do germe e o exame cadavérico.

As verificações de NUNNO se fizeram, pois, com germens vivos ou mortos. Nós as observamos com filtrados de culturas ou extratos bacterianos separados dos germens. Com justeza podemos atribuir as alterações por nós vistas à ação de produtos tóxicos dos germens ou seja das brucelas. Como averiguou NUNNO, após ação prolongada dos produtos metabólicos do germe, as alterações encontradas foram de natureza grave e indicativas de lesões reversíveis ou irreversíveis do tecido nervoso, particularmente das células nobres e dos elementos condutores do influxo nervoso, num grau suficiente a explicar perturbações de natureza funcional tal qual observamos na intoxicação pelas toxinas gangrenosas (7, 8, 9).

As que nós observamos se aproximam e se identificam às de NUNNO em muitos pontos, indicativos de lesões extensas no sistema nervoso central.

As referidas por NUNNO se relacionam a alterações de ação demorada, enquanto nós as observamos em curto prazo, mas sempre presentes nos animais intoxicados. Isto significa que atuando rápida ou lentamente, a toxina brucelosa promove alterações somáticas e provàvelmente funcionais no sistema nervoso que viriam explicar a multiplicidade de sintomas de origem nervosa observados na brucelose.

BIBLIOGRAFIA

1. ARIAS-STELA, J., 1951, *An. Fac. Med.*, Lima, Peru, 34 : 429-517.
2. BRAUDE, A.I. & ANDERSON, D., 1950, Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949 : 50-61.
3. HARRIS, J.H., 1950, Brucellosis (Undulant fever). 2 ed., rev. Paul B. Hoeber. Inc. New York: 617 pp.
4. HARRIS, J..H, 1954, Psychos. *Medicine*, 16(5) : 414-425.
5. MAZZA, S. & JÖRG, M.E., 1948, Publ. n.º 19, M.E.P.R.A. : 63 pp.
6. NUNNO, R., 1914, *Deut. Arch. Klin. Med.*, 116 : 275-294.
7. PACHECO, G., COSTA, G.A.; MOUSSATCHÉ, I. & THIAGO DE MELLO M., 1947., *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 45(3) : 609-617.
8. PACHECO, G.; CARDOSO, RITA A.A. & COSTA, G.A., 1947, *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 45(4) : 881-889.
9. PACHECO, G.; COSTA, G.A. & THIAGO DE MELLO, M., 1950, *Anais do 5.º Congr. Intern. Microb.;* em impressão.
10. ROGER, H. & POURSINES, Y., 1938, *Les meningo-neurobrucelloses*. Masson et Cie., Paris : 248 pp.
11. VALENTÍ, P.F., 1943, *Neurobrucelosis*. Estudio de las manifestaciones nerviosas de la Fiebre de Malta y Enfermidad de Bang. Manuel Marin, Ed., Barcelona : 116 pp.

Fig. 1

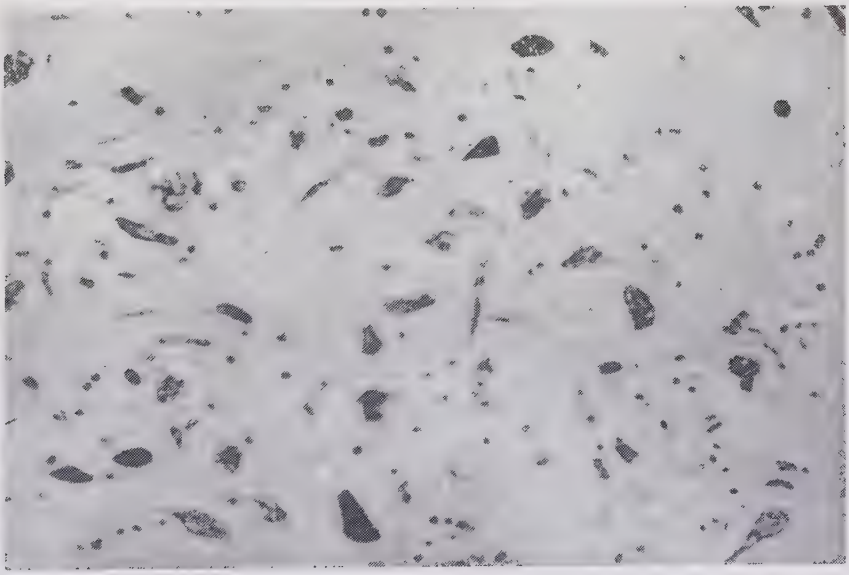


Fig. 2

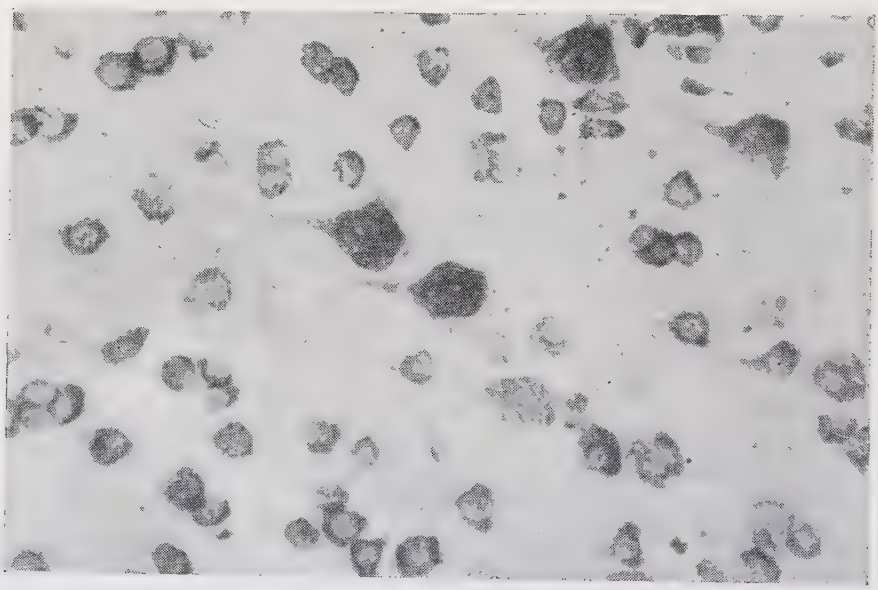


Fig. 3

Neuropatologic lesions of the brucella toxin

by

Genésio Pacheco, Paulo Elejalde & Fridolin Schlögel

The neuropatic symptoms in brucellosis are predominant. Sometimes these symptoms are dependent of brucella localization in nervous system, as we can see in Roger & Pursines and Valenti's monographies and others. Nunno observed nervous lesions with cultures of lived or killed brucella by venous or epidural inoculation.

The nervous symptoms may be done by brucella toxin. To verify this possibility, toxic products of brucella were obtained from cultures of brucella in albimi broth during 14 days in incubator, filtering in Seitz EK, preserved with toluol and frigo.

Lots of mice, 20-22 gr, were injected by venous or peritoneal way and the brain of animals dead or killed after 10 days of the injections, were fixed in formol, alcool or Cajal liquid. The stains used were: cresyl-violet at Spielmeyer, Gomori and Rio-Ortega.

Mices injected on the same days with albimi broth served as control.

Regressive changes such as vacuolation of the cytoplasm, necrobiosis and necrosis of nerve-cells in the nerve centers, alternating with apparently normal cells were observed in mice injected intravenously (Fig. 1).

Microglia of the affected areas undergoes changes corresponding to the early stages of mobilization. Acute swelling of oligondencrocytes was noted, without ameboid swelling of astrocytes. Vessels and meninges were normal.

Primary or toxic reactions of nerve-cells and slight microglial proliferation occurred in mice injected in the peritoneum. Oligodendrocytes and astrocytes remaining normal.

No changes in central nervous system were found in the controls.

The experiments were done also with extracts of bacilli bodies after treatment by ether, acetone, or ether-cloroform mixture, evaporating the solvent after bacterial contact and used in the same ways.

Bacterial suspension of killed brucella in saline were used as control.

The brain of animals dead or killed after 2-3 days were plunged into the same liquids referred to above for histological studies.

Mice injected intravenously with this antigen showed lymphocytic infiltration of the leptomeninges, hyperemia, perivascular infiltration

by mononuclears, acute swelling of Purkinge cells and oligodendrocytes as well as edema. Microglia and astrocytes were normal (Fig. 2).

Similar changes besides clasmatodendrosis of astrocytes were seen in the brain of mice injected in the peritoneum. Meninges appeared normal (Fig. 3).

Hyperemia, acute swelling of oligodendrocytes and moderate hypertrophy of astrocytes were noted in the brain of mice injected with suspension of killed brucella, as control.

Conclusion: Changes of the nervous tissues were induced in mice after injection with substances produced by brucella in albimi broth or extracted from bacilli bodies. These changes suggest explanation to nervous symptoms observed in the human brucellosis.

Distribuição da xantina oxidase no fígado e no sôro de rato*

por

Gilberto G. Villela, Ottilia R. Affonso, Luiz P. Ribeiro e Emilio Mitidieri
Laboratório de Bioquímica — Instituto Oswaldo Cruz

Schardinger, em 1902, mostrou que o leite fresco descorava o azul de metileno, em presença de um aldeido. Trommsdorff verificou que esta reação se processa pela existência no leite, de um catalisador de natureza enzimática que passou, desde então, a ser conhecido com o nome de "enzima de Schardinger". Bach, mais tarde, mostrou que esta enzima também podia ser revelada em tecidos animais. Hopkins e Morgan verificaram que a substância que induzia a redução do azul de metileno no leite, era uma purina (hipoxantina ou xantina). Esta purina funciona aí como um aceptor de oxigênio e o azul de metileno, como aceptor de hidrogênio. Tais autores demonstraram, subseqüentemente, que a enzima de Schardinger era idêntica à xantina oxidase (X.O.), por êles descoberta no leite, ambas oxidando a xantina a ácido úrico, em presença de oxigênio (aerobiose) ou, sem oxigênio (anaerobiose) em presença de um aceptor de hidrogênio.

A identidade definitiva entre a enzima de Schardinger e a X.O. dos tecidos foi estabelecida pelos estudos detalhados de Dixon e Thurlow (3). A oxidação da xantina e hipoxantina, tanto pelo oxigênio molecular como pela deshidrogenação em anaerobiose, é propriedade da mesma enzima. A oxidase é muito específica para o doador de hidrogênio (xantina, hipoxantina e aldeido) mas não o é para os aceptores de hidrogênio (Dixon). Além do azul de metileno, várias substâncias podem funcionar como aceptores de hidrogênio e entre elas o trifeniltetrazol, que tem sido utilizado em nossos estudos.

A xantina oxidase tem sido determinada principalmente pela técnica de descoramento do azul de metileno, em anaerobiose, nos tubos de Thunberg. A distribuição desta enzima como deshidrogenase foi estudada por Morgan, em 1926, em tecidos de diversos animais (cão, gato, carneiro, cobra, coelho, pombo, porco, galinha). Quasi todos os dados referidos por Morgan, foram qualitativos (10). Fígado, intestino e baço são os órgãos que contêm maior concentração de enzima. Em alguns animais, porém, o fígado é isento de atividade X.O. (cão, porco, pombo

* Êste trabalho é dedicado ao Professor Dr. Henrique B. Aragão.

e cavalo). Outros autores apresentaram dados referentes à atividade deshidrogenase da enzima dos órgãos de diversas espécies de animais (Abderhalden, Oppenheimer, Morgan, Stewart e Hopkins), porém, nenhum dêles procurou a enzima no sangue. Mais recentemente, Blauch e col., estudando o ácido úrico do sangue de rato, observaram que êste quando incubado com xantina ou hipoxantina, apresentava sensível aumento no ácido úrico, dosado colorimètricamente. Êstes autores também mostraram que a xantina oxidase do sangue de rato é idêntica à enzima do leite, pois as duas tem igual comportamento em face dos mesmos ativadores ou inibidores (2).

Westerfeld, Richert e Hilfinger, num trabalho sôbre a xantina oxidase durante a carcinogênese pelo p-dimetilaminoazobenzeno, dosaram espectrofotomètricamente o ácido úrico resultante da oxidação da xantina, depois de incubar o sangue com esta purina, e encontraram valores de 50-60 microgramas de xantina oxidada por um mililitro de sangue (24).

A distribuição de vários constituintes celulares tem sido estudada intensamente no fígado e outros órgãos, pelo método da centrifugação fracionada, introduzido por Bensley e aperfeiçoado por Claude. No que diz respeito à localização de enzimas no fígado, Schneider e Hogeboom mostraram que as mitocôndrias encerram a maior parte das enzimas oxidativas do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (17). A uricase se localiza principalmente na fração mitocondrial (15), ao passo que a adenosina deaminase e nucleosídeo fosforilase acham-se situadas na porção das proteinas solúveis (18). Investigando a distribuição da xantina oxidase em homogenatos de fígado de rato, pela centrifugação fracionada, verificamos que esta enzima se encontra na fração das proteinas solúveis (23).

O sangue de rato foi também objeto de nossas investigações, no que diz respeito à distribuição da deshidrogenase nas frações das proteinas do sôro. Em experiências preliminares por meio da precipitação com sulfato de amônio, foi possível verificar que tôda xantina deshidrogenase estava confinada às globulinas, sendo a albumina desprovida de atividade X.D. Em estudo mais detalhado, usando a eletroforese em papel, conseguimos demonstrar que a enzima migrava com as globulinas do sôro (9). Uma vez que a separação eletroforética, bem como a revelação no papel, ainda não foram aplicadas para o estudo desta enzima (7), achamos de interêsse descrever detalhadamente a técnica empregada para tal fim, o que será feito mais adiante.

MÉTODOS E RESULTADOS

A distribuição da xantina oxidase e da xantina deshidrogenase, em fígado de rato, foi estudada pelo método da centrifugação fracionada dos componentes celulares (4).

Ratos albinos Wistar, machos, foram usados nêste estudo. Os animais foram decapitados, os fígados imediatamente retirados e logo em

seguida colocados numa solução 0,25 M de sucrose, bem gelada. A polpa de fígado foi, então, pesada e depois homogenizada em um liquidificador, juntamente com 9 volumes da mesma solução de sucrose, bem gelada. Do homogenato (H) foi separada uma alíquota para a determinação das atividades X.O. e X.D. e dosagem de nitrogênio total e o restante foi centrifugado por 10 minutos a 600 x g. Após êste tempo de centrifugação os núcleos (N) sedimentaram-se e foram separados, por decantação, do líquido sobrenadante (S_1). Os núcleos, depois de lavados duas vêzes com solução de sucrose, foram colocados em 5 ml de uma solução tampão de pirofosfato de sódio, pH 8, 6, para a determinação das atividades X.O. e X.D. e dosagem do nitrogênio total. As soluções de lavagem dos núcleos (N) foram juntadas ao sobrenadante (S_1) e centrifugadas por 10 minutos a 8 500 x g separando-se assim, por sedimentação, as partículas mitocondriais (Mt) e sobrenadante (S_2). Depois de aplicado à fração Mt o mesmo tratamento descrito acima para os núcleos (N), as mitocôndrias foram separadas. O sobrenadante (S_2) e as soluções de lavagem das Mt foram então centrifugados a 20 000 x g, por 60 minutos. Depois dêste tempo de centrifugação separaram-se, por sedimentação, as partículas submicroscópicas (microsomas) (Mc) e uma última fração sobrenadante (S_3) (proteinas solúveis). Para as dosagens, os microsomas foram colocados em 5 ml de tampão pirofosfato. Tôdas as frações separadas foram examinadas microscòpicamente, depois de coradas pelo Feulgen e "Janus green". As dosagens da atividade X.O. e X.D. e do nitrogênio total foram feitas no homogenato (H) e nas frações: núcleos (N), mitocôndrias (Mt), microsomas (Mc) e sobrenadante (S_3).

Para a dosagem da atividade da xantina oxidase, foi usado o método manométrico que mede o consumo de oxigênio em um respirômetro de Warburg. A técnica empregada foi semelhante à descrita por Villela e Mitidieri (21) (22), na qual foi usado como tampão uma solução de pirofosfato de sódio pH 8,6 e como substrato 0,2 ml de uma solução 0,05 M de xantina dissolvida em NaOH 0,05 M. Os resultados para a atividade da X.O. foram expressos em milímetros cúbicos de oxigênio consumidos / grama de pêso sêco / 60 minutos.

Na determinação da atividade deshidrogenase foi usado o método de Villela (20), empregando tubos de Thunberg tendo como substrato 0,1 ml da mesma solução de xantina usada na determinação da oxidase e, como aceptor de hidrogênio, 0,3 ml de uma solução a 0,1% de cloreto de trifeniltretrazol (TTC). Depois da incubação a 37ºC, por 30 minutos, a formazana produzida foi extraída com éter de petróleo e a côr lida em um colorímetro Unicam, em 480 mμ.

O nitrogênio total do homogenato e de cada fração foi determinado de acôrdo com o método descrito por Lanni e col. (6). Uma alíquota da fração a dosar, (contendo entre 5 e 80 γ), após digestão com H_2SO_4 e H_2O_2, foi tratada no mesmo tubo com reagente de Nessler e a côr formada lida imediatamente num colorímetro em 490 mμ.

Na Tabela I estão os resultados das determinações das atividades oxidase e deshidrogenase e da dosagem do nitrogênio nas diversas frações separadas por centrifugação.

TABELA I

Distribuição intracelular da xantina oxidase em fígado de rato

FRAÇÕES	XANTINA OXIDASE		XANTINA DESHIDROGENASE		Nitrogênio total***
	Atividade*	%	atividade**	%	
Homogenato (H)	1 077	100	1 270	100	3 295
Núcleos (N)	0	0	0	0	480
Mitocôndrias (Mt)	0	0	0	0	769
Microsomas (Mc)	0	0	0	0	635
Sobrenadante (S_3)	691	64,15	1 325	104,3	1 605

* mm^3 O_2/g de pêso sêco/60 minutos.
** µg de formazana produzida /g de pêso sêco/30 minutos.
*** µg de nitrogênio / 100mg de fígado.

Na Figura I estão relacionados os diversos valores do nitrogênio das frações e as atividades X.O. e X.D. Pode-se notar claramente, tanto na tabela como na figura I, que sòmente a fração que contém as proteinas solúveis, sobrenadante (S_3), apresenta atividade quer de deshidrogenase quer de oxidase. Os valores obtidos para o conteúdo em nitrogênio das frações estão de acôrdo com os resultados apresentados por outros autores (17), indicando que as frações são perfeitamente homogêneas.

A distribuição da X.D. no sôro de rato foi, preliminarmente, verificada nas frações globulina e albumina separadas por precipitação com sulfato de amônio. A precipitação foi feita adicionando-se a uma determinada quantidade de sôro, igual volume de uma solução saturada de sulfato de amônio (cujo pH foi prèviamente ajustado a 7,4, com NH_4OH) de modo que a concentração final de $(NH_4)_2SO_4$ ficou sendo 50% . Nessas condições precipitam as globulinas, ficando em solução a albumina. A fração globulina foi então separada por centrifugação, dissolvida em água distilada e dializada, num saco de celofane, durante 24 horas, contra água distilada, a baixa temperatura. A fração albumina, depois de separada, foi dializada do mesmo modo que a fração globulina. A determinação da atividade de X.D. foi feita nas duas frações usando-se a técnica já descrita anteriormente. Sòmente a fração globulina apresentou atividade X.D. Após êsses resultados preliminares foi realizado um estudo mais detalhado em que se fez o fracionamento do sôro por meio de eletroforese em papel.

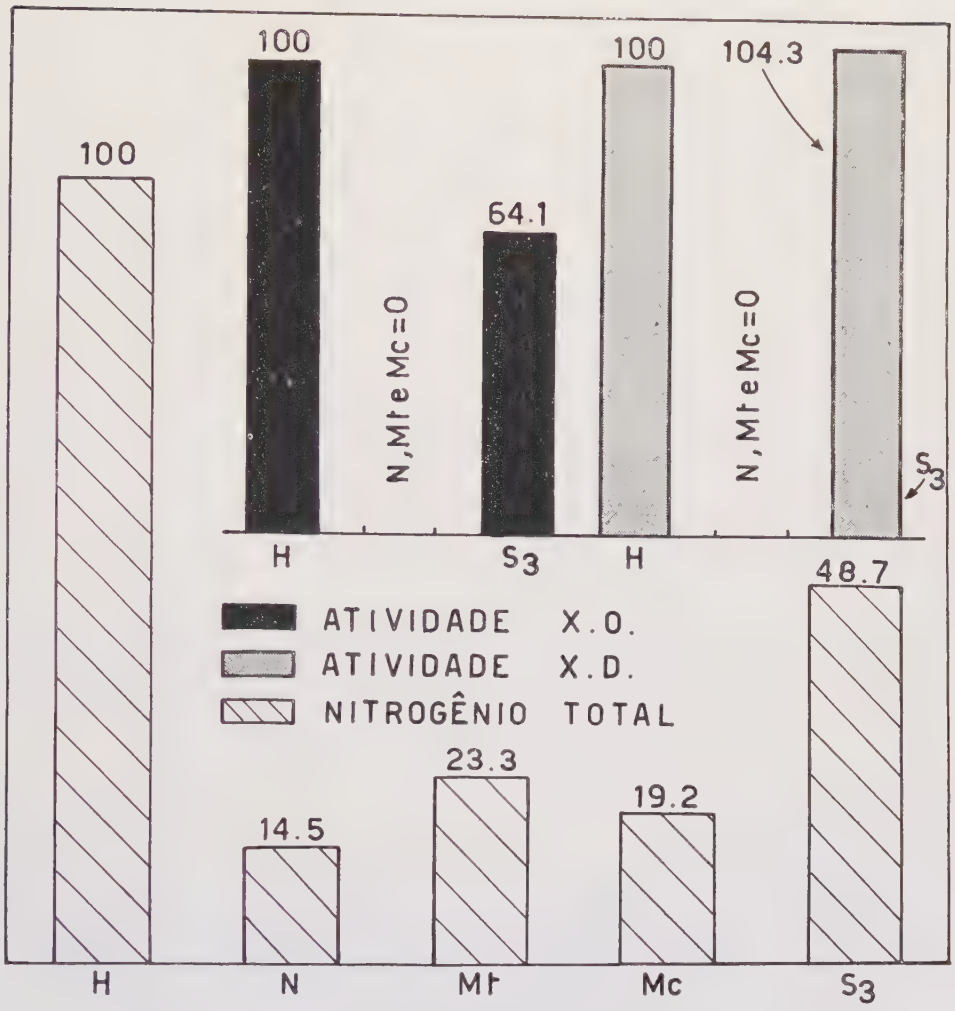
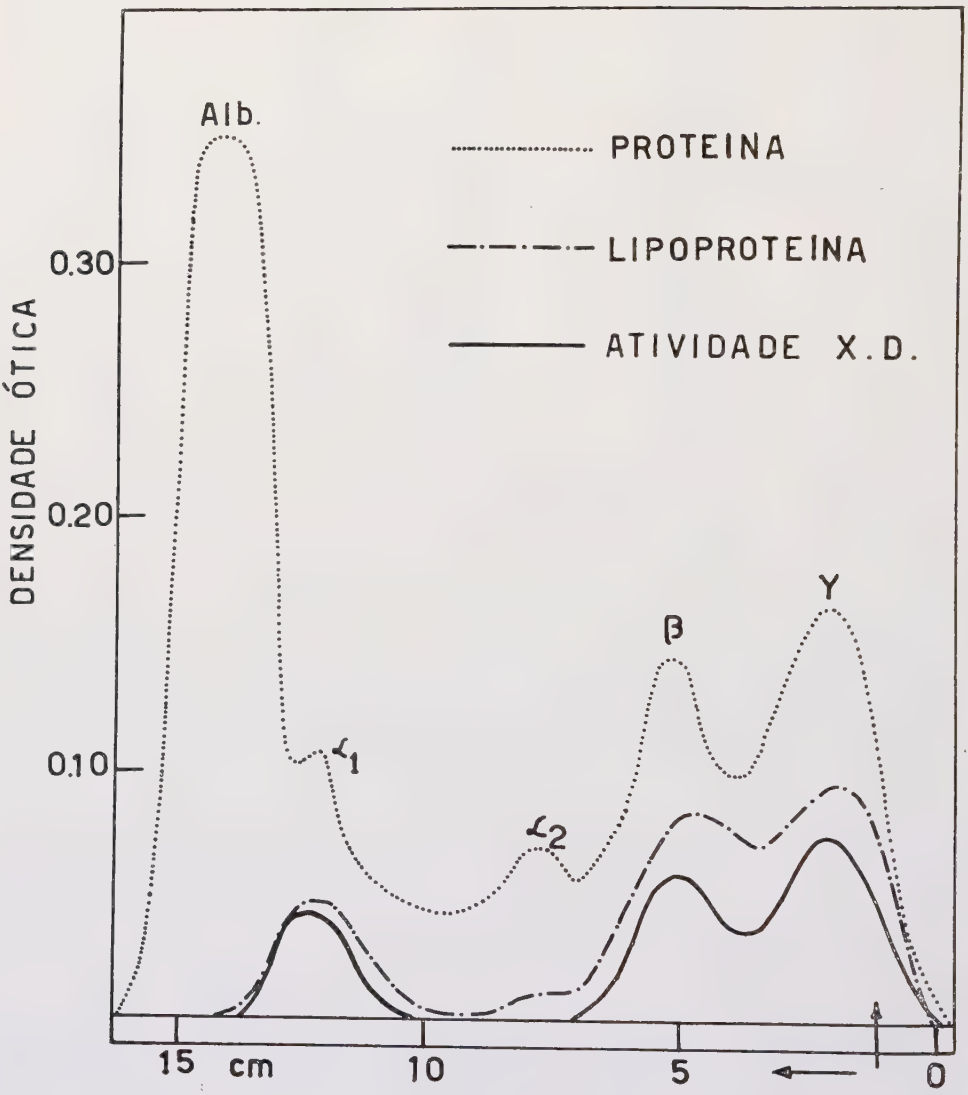


Fig. 1: Distribuição intracelular do nitrogênio, xantina oxidase e xantina deshidrogenase, em fígado de rato. Os números representam percentagem. (H = homogenato; N = núcleo; Mt = Mitocondrias; Mc = Microsomas e S_3 = Sobrenadante).

As separações eletroforéticas foram realizadas num aparelho descrito anteriormente (12), com algumas modificações (13). Em tôdas as experiências usou-se tampão de fosfato pH 7,4, uma vez que foi verificado que a X.D. tinha sua atividade parcialmente inibida quando se empregava tampão de barbital pH 8,6, mais comumente usado em eletroforese em papel. Numa tira de papel Whatman n.º 3 (10 cm x 57 cm) foram pipetados 0,01 ml de sôro de rato para revelação das frações proteicas e 0,2 ml (em 10 pontos adjacentes com 0,02 ml cada um) para a determinação da atividade enzimática ou das frações lipo-

protéicas. A revelação das proteinas foi feita usando o método da eluição (5) empregando-se carbonato de sódio (2%) em alcool metílico a 50%.



Para a determinação das frações lipoprotéicas do sôro empregou-se o método descrito por SWAHN (19) que revela as frações corando-as com "Sudan black" e depois de eluição com uma solução de ácido acético em alcool, a côr é lida em um colorímetro em 590 mμ.

A determinação da atividade X.D. nas frações separadas por eletroforese foi feita cortando-se as tiras de papel em segmentos paralelos de 1,5 cm. Êstes pedaços de papel foram então colocados em tubos de Thunberg contendo 5 ml de solução tampão de fosfato pH 7,4. No ramo lateral dos tubos de Thunberg foi colocado o substrato (0,1 ml de solução de xantina) e o aceptor de hidrogênio (trifeniltetrazol 0,1%). Depois de feito o vácuo, os tubos foram colocados num banho-maria, a 37ºC. Após 10 minutos de incubação, o substrato e o aceptor de hidrogênio foram misturados com o conteúdo do tubo. A incubação total foi de 18 horas e, depois dêste tempo, a formazana produzida foi extraida e a côr lida, como descrito acima. Tubos contendo papel sem proteina foram incubados para servir de "blank".

Os resultados mostram que a atividade X.D. parece localizar-se nas frações α_1, β e γ globulinas. Estas frações são as mesmsa em que se apresentam as lipoproteinas, reveladas pelo "Sudan black", como ilustra a figura 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A xantina oxidase está ausente na fração mitocondrial (Mt), bem como nos núcleos (N) e microsomas (Mc). Sòmente na fração que contém as proteinas solúveis é que foi encontrada atividade de oxidase e deshidrogenase, confirmando os resultados obtidos por outros autores (8) (16). A mistura das quatro frações: N + Mt + Mc + S_3, deu uma recuperação para a atividade enzimática de 102%. A atividade da xantina oxidase da fração S_3 foi sòmente de 64,15% da atividade do homogenato inicial, enquanto que a atividade deshidrogenase da enzima foi de 104,3% daquela do homogenato. Esta menor percentagem obtida para a atividade oxidase na fração das proteinas solúveis (S_3), em comparação com a atividade deshidrogenase, pode ser explicada devido à maior estabilidade desta última, como foi mostrado por Richert e col. (14) em seus estudos sôbre inibição da enzima.

A xantina deshidrogenase do leite se acha unida a um componente lipídico do qual pode ser separada pela adição de diversos solventes orgânicos (11). A possibilidade de que esta enzima no sôro de rato também se encontre ligada às lipoproteinas, foi por nós verificada pela eletroforese em papel e revelação das lipoproteinas pelo "Sudan black", conforme a técnica de Swahn. A figura 2 mostra as curvas obtidas pela eletroforese e a migração da enzima com as frações de globulinas e de lipoproteinas. Êste resultado parece indicar que o rompimento das ligações lipoproteicas liberta a enzima ativa, que se encontra parcialmente bloqueada. Isto explica, talvez, a ativação da xantina oxidase pelo tetracloreto de carbono, "in vitro" e "in vivo", e por outros solventes orgânicos, conforme foi demonstrado em outros trabalhos dêste laboratório (21) (22) (1).

SUMMARY

The localization of the xanthine oxidase (X.O.) and xanthine dehydrogenase (X.D.) activities in rat liver have been studied using the separation of cytoplasmic particles into fractions by differential centrifugation. The results clearly demonstrate that practically all the enzymic activity is present in the supernatant fluid corresponding to the cell sap containing the soluble proteins of the cell. No activity could be detected for the nuclear, mitocondrial and microsomal fractions. The enzymatic activity of the mixture of the four fractions was 102 per cent of that of the original homogenate.

The distribution of the xanthine dehydrogenase in the protein fractions of the rat serum was accomplished in preliminary experiments by means of 50% ammonium sulphate precipitation and subsequent dialysis against water. All enzymatic activity was confined to the globulin fractions of the serum. Paper electrophoresis was performed and the protein and lipoprotein fractions determined. A method for the localization of the X.D. activity in the protein fractions separated by paper electrophoresis was developed. The results obtained suggest that xanthine dehydrogenase is localized in the globulin fractions possessing mobilities of α_1, β and γ globulins and are probably bound to the lipoproteins.

BIBLIOGRAFIA

1. Affonso, O.R., Mitidieri, E., Ribeiro, L.P. & Villela, G.G., *Blood serum xanthine oxidase of rats poisoned with carbon tetrachloride.* To be published.
2. Blauch, M.B., Koch, F.C. & Hanke, M.E., 1939, A study of xanthine oxidase of art blood. *J. Biol. Chem.* 130 : 471-486.
3. Dixon, M. & Thurlow, S., 1925, Shudies on xanthine oxidase. *Bioch. J.* 19 : 672-675.
4. Hogeboom, G.H., Schneider, W.C. & Pallade, G.E., 1948, Cytochemical studies of mammalian tissues. I. Isolation of intact mitochondria from rat liver; Some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. *J. Biol. Chem.,* 172 : 619-635.
5. Kunkel, H.G. & Tiselius, A., 1951, Electrophoresis of proteins on filter paper. *J. Gen. Physiol.,* 35 : 89-118.
6. Lanni, F., Dillon, M.L. & Beard, J.N., 1950, Determination of small quantities of nitrogen in serological precipitates and other biological materials. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.,* 74 : 4-7.
7. McDonald, H.J., Lappe, R.J., Marbach, E.P., Spitzer, R.H. & Urbin, M.C., 1955, Ionography: Electrophoresis in stabilized media. Year Book Publishers, Inc. Chicago, pg. 156-161.
8. Meikleham, V., Wells, I.C., Richert, D.A. & Westerfeld, W.W., 1951, Liver esterase and xanthine oxidase during protein depletion. *J. Biol. Chem.,* 192 : 651-661.
9. Mitidieri, E., Ribeiro, L.P., Affonso, O.R. & Villela, G.G., 1955, Localization of xanthine dehydrogenase in rat serum by paper electrophoresis. *Bioch. Biophys. Acta,* 17 : 587.

10. Mosgan, E.J., 1926, The distribution of xanthine oxidase. *Bioch. J.*, 20 : 1282-1291.

11. Polonovsky, M., Bandu, L. & Neuzil, E., 1947, Xanthine dehydrase et cénapses lipo-protéidiques du lait de vacche. *Bull. Soc. Biol.*, 29 : 958-967.

12. Ribeiro, L.P., 1955, Electroforese em papel e sua aplicação clínica. *O Hospital,* 47 : 169-175.

13. Rodrigues, E. & Ribeiro, L.P., 1954, Montagem simples para electroforese em papel para uso em laboratórios clínicos. *O Hospital,* 46 : 611-616.

14. Richert, D.A., Vanderlinde, R. & Westerfeld, W.W., 1950, The composition of rat liver xanthine oxidase and its inhibition by antabuse. *J. Biol. Chem.,* 186 : 261-274.

15. Schein, A.H., Podber, E. & Novikoff, A.B., 1951, Intracellular localization of uricase. *J. Biol. Chem.,* 190 : 331-337.

16. Schein, A.H. & Young, E.M., 1952, Xanthine oxidase distribution in liver cell-fractions. *Fed. Proc.,* 11 : 282.

17. Schneider, W.C. & Hogeboom, G.H., 1950, The isolation of cell components bâ differential centrifugation. *A review.* Cancer Res., 11 : 1-22.

18. Schneider, W.C. & Hogeboom, G.H., 1952, Intracellular distribution of enzymes. IX. Certain purine-metabolizing enzymes. *J. Biol. Chem.,* 195 : 161-174.

19. Swahn, B., 1952, A method for localization and determination of serum lipids after electrophoretical separation on filter paper. *Scand. J. Clin. Lab. Incest.,* 4 : 98-103.

20. Villela, G.G., 1954, Determination of rat liver xanthine dehydrogenase by triphnyltetrazolium chloride. *Rev. Bras. Biol.,* 14 : 455-458.

21. Villela, G..G & Mitidieri, E., 1955, Rat liver xanthine oxidase in carbon tetrachloride poisoning. *Nature,* 175 : 208-209.

22. Villela, G.G. & Mitidieri, E., 1955, Effect of carbon tetrachloride on the rat liver xanthine oxidase. *Rev. Bras. Biol.,* To be published.

23. Villela, G.G., Mitidieri, E. & Affonso, O.R., 1955, Intracellular distribution of xanthine oxidase in the rat liver. *Nature,* 175 : 1087.

24. Westerfeld, W.W., Richert, D.A. & Hilfinger, M.F., 1950, Studies on xanthine oxidase during carcinogenesis by p-dimethylaminoazobenzene. *Cancer Res.,* 10 : 486-494.

Osteopatia tóxica hipertrófica associada a mixocondrosarcoma pulmonar metastático: descrição de um caso

por

F. D. Garcia de Lima

(Com 9 figuras)

Desde que foi primeiramente descrita, no mesmo ano (1890) e independentemente por P. Marie e Bamberger, já foram relatados numerosos casos de osteopatia periostótica conhecida como doença de P. Marie-Bamberger, a qual constitui assunto do presente artigo. O número de casos descritos prova que esta doença óssea não é rara. Associa-se, quase sempre, a doenças dos órgãos intratorácicos (raramente, entretanto, a doenças do coração). Esta associação é muito predominante com doenças pleuro-pulmonares crônicas. Por sua vez, é nítida e importante a predominância acentuada da associação entre os processos tumorais malignos pulmonares e mediastínicos à osteopatia tóxica hipertrófica. Esta última, entretanto, é muito menos freqüente que os primeiros. Parece-nos pouco difundido, entre nós, o conhecimento desta osteoplatia. Sua importância como possível sinal de alarme e precoce de uma neoplasia pulmonar primitiva ou metastática foi um dos motivos que nos sugeriram a publicação dêste caso. Não encontramos casos semelhantes descritos na literatura nacional, embora não tenhamos podido realizar uma pesquisa completa neste sentido.

O caso foi observado no Hospital Evandro Chagas do Instituto Oswaldo Cruz, no Serviço do Dr. Genard Nóbrega. A observação não pôde ser completa como desejávamos, pois o doente faleceu no 4.º dia de sua internação, e durante aquêle período esteve sempre em estado bastante grave.

OBSERVAÇÃO CLÍNICA

A. O. S. masculino, 21 anos de idade, branco, solteiro, natural do D.F. Internado em 16-4-55.

História da doença atual: Doente desde há 3 mêses e meio. Devido ao precário estado seu não foi possível obter uma história precisa de sua doença. Dois foram os primeiros sintomas: edema do pé direito (único que possue) e tosse. Não ficou esclarecido se um antecedeu ao outro,

embora o doente afirme que o edema precedeu a tosse, e era mole e indolor, acentuando-se durante o dia e desaparecendo a noite. A tosse era freqüente e acompanhada de expectoração abundante, sem sangue, sem pus, e sem odor especial. Gradualmente foi piorando o seu estado, com acentuação dos dois sintomas acima citados, e havendo aparecimento de dispnéia. Esta era inicialmente de esfôrço, mas ràpidamente tornou-se contínua. Notou também que nêste período da doença expectorava com dificuldade. Nesta época procurou serviços médicos, tendo sido prescrito como tratamento o uso de Di-hidroestreptomicina, sem que tivesse tirado nenhum proveito de sua ação. Há cêrca de 20 dias seu estado agravou-se muito: estava oligúrico e o edema comprometeu os membros superiores, aumentando muito seu volume. Ficou ortopnéico, e a dispnéia acentuou-se tanto que não podia fazer o mínimo esfôrço. A respiração tornou-se ruidosa, devido à presença contínua de secreção na garganta. Surgiu disfagía para alimentos sólidos, acompanhada de máu gôsto na bôca. Observou que se produziu um abaulamento pouco acentuado na face anterior do hemitórax direito, e aumento de volume das mãos e do pé, assim como de todos os dedos, acompanhado de uma alteração na sua forma, caracterizada por alargamento das unhas e engrossamento dos dedos.

Antecedentes pessoais patológicos: aos 6 anos teve "pneumonia com pleuris", no lado direito, tendo sido realizada punção pleural. Relata que quando estava quase bom, formou-se um abcesso abaixo do mamilo direito, o qual foi drenado obtendo-se a cura, permanecendo uma cicatriz no local. Diz ter sofrido reumatismo, não tendo sido possível apurar-se nenhum detalhe acêrca dêste comemorativo. Há 8 mêses, em desastre de bonde, perdeu a perna esquerda, que foi amputada ao nível do terço superior da coxa.

Antecedentes pessoais não patológicos: fumante inveterado; não é etilista.

Antecedentes familiares: pai falecido de causa ignorada. Mãe viva gozando boa saúde.

EXAME FÍSICO

Inspeção geral: paciente ortopnéico, fácies de sofrimento, em bom estado de nutrição. Dispnéia com cornagem.

Cabeça: não fornece dados patológicos.

Pescoço: discreta turgência das jugulares; tireóide impalpável, gânglios impalpáveis.

Tórax em geral: na face ântero-lateral do hemitórax direito há uma cicatriz hipercrômica e retraída, ao nível das 6.ª, 7.ª, 8.ª e 9.ª costelas, com seu eixo maior orientado no sentido dos espaços intercostais. Depressão do tórax nêste local. Narra o doente que esta cicatriz é devida ao pleuriz que sofreu. No mesmo hemitórax, abaulamento da região peitoral.

Aparêlho respiratório. Inspeção: tiragem acentuada dos intercostos esquerdos. Inexpansibilidade de ambos os hemitóraces. Circulação colateral na face anterior do hemitórax direito, representada por uma veia pouco dilatada, de corrente sanguínea orientada para o abdomen. Palpação: frêmito tóraco-vocal abolido à direita, muito diminuido à esquerda. À palpação o abaulamento não revelou pulsatibilidade, nem hipertermia, nem consistência anormal. Ausculta: ausência de murmúrio vesicular no hemitórax direito, onde só se ouve o ruido propagado da cornagem. No hemitórax esquerdo ouve-se o mesmo ruido, mas percebe-se murmúrio vesicular rude e ouvem-se estertores sub-crepitantes raros na base. Sinal da moeda positivo no hemitórax direito.

Aparêlho circulatório. Inspeção e palpação da região precordial: *ictus cordis* visível, com abalos difusos de todo o precórdio. Nada anormal à palpação. Ausculta: rítmo de galope, freqüência de 132 batimentos por minuto. Os focos de ausculta estão deslocados para a esquerda: o de maior ausculta na ponta encontra-se na linha axilar anterior, ao nível do 6.º intercosto esquerdo, onde se ouve um sôpro sistólico pouco intenso, suave. Nota-se igual desvio nos focos da base, onde as bulhas, abafadas, são ouvidas à esquerda do esterno. Na região da ponta as bulhas são acentuadas.

Abdomen: não há circulação colateral nem ascite. Fígado palpável indolor, ao nível da linha hemi-clavicular direita, a 1 dedo do rebordo costal, com bordos finos e moles. Baço impalpável.

Membros superiores: edemaciados, sendo o edema muito pronunciado nas mãos, e menos acentuado nos antebraços. O edema é indolor, frio, algo duro. O pulso radial é difìcilmente perceptível, com rítmo normal taquisfígmico (132 pulsações por minuto). Pressão arterial: 95 x 70. Dedos em vaqueta de tambor, muito engrossados, edemaciados, e as unhas têm forma em vidro de relógio. Cianose discreta do leito ungueal.

Membros inferiores: ausência do membro inferior esquerdo, que foi amputado ao nível do terço superior da coxa. Edema acentuado (+++) do pé e da perna até o joelho. Artérias impalpáveis devido ao edema. Veias sem alterações visíveis. Cianose dos pododáctilos, que estão também aumentados de volume.

Sistema nervoso: não se encontraram alterações nos pares cranianos, e a motilidade está conservada, íntegra.

DADOS DE LABORATÓRIO

Hematologia periférica.

Hemácias	4.000.000 por mm³	V.G.M. 80 u³
Hematócrito	36%	CHb.C.M. 30%
Hemoglobina	10.8 g por 100 ml	Hb.C.M. 27 yy

Leucócitos: 8.000 por mm³

Leucograma:

Eos.	Bas.	Miel.	Jov.	Bast.	Segm.	Linf.	Mon.
0	0	0	0	9	68	14	9

Hemossedimentação: 84 mm na primeira hora.

Havia então, uma discreta anemia hipocrômica, com neutrofilia relativa e hemossedimentação muito acelerada. Nada esclarecedor, portanto.

Exame de urina: densidade: 1009,3, reação neutra, traços leves de albumina, glicose ausente, pigmentos biliares ausentes, ácidos biliares ausentes, e urobilina levemente aumentada. Sedimento: poucas células, raros leucócitos, filamento de muco, bactérias. Nenhuma anormalidade digna de nota, também.

Foram feitos dois exames de escarro para pesquisa de B.A.A.R., que foram negativos.

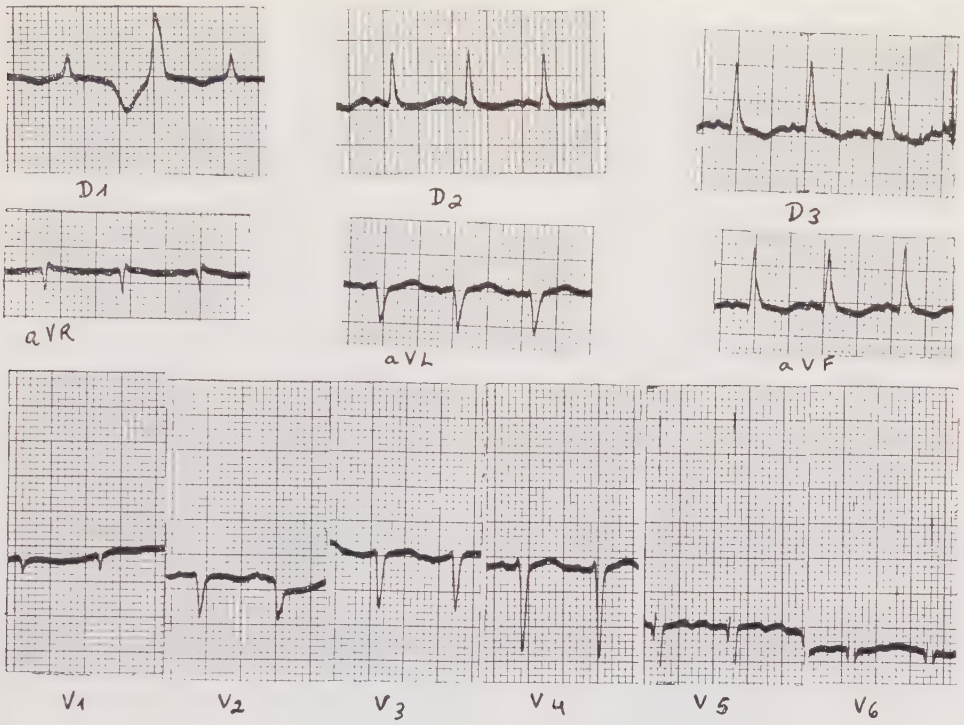
Bioquímica do sangue:

Fósforo	3.4 mg. por 100 ml.
Proteinas totais	7.1 g. por 100 ml.
Albumina	2.4 g. por 100 ml.
Globulina	4.7 g. por 100 ml.
Relação A/G	0.51
Cálcio	8 mg. por 100 ml.
Fosfatase alcalina	10.7 U. Bodansky

Electrocardiograma: (fig. 1).

Taquicardia sinusal com freqüência de 130 ciclos por minuto. Espaço P-R com 0.12 segundos de duração. Onda P anormal, de baixa voltagem, de forma irregularmente entalhada. aP entre + 60º e + 90º. Complexo QRS com 0.08 segundos de duração, com aQRS a + 105º. Complexo QRS tipo rS em D1 e qR em D3, com coração em posição elétrica vertical pelas unipolares dos membros. Onda T positiva em D1 e aVL, isoelétrica em aVR e negativa em D2, D3 e aVF com aT a — 60º. Extrassístoles ventriculares. Derivações precordiais: complexo QRS de baixa voltagem, tipo rS em precordiais direitas, até V4, e tipo qRs, com ondas R muito amplas em precordiais esquerdas. Onda T positiva de V1 a V6, de baixa voltagem em V1, 2, 5 e 6. Segmento ST ligeiramente infra-desnivelado em V5 e V6.

Conclusões: taquicardia sinusal. Extrassístoles ventriculares. Alteração da despolarização auricular. As alterações do complexo ventricular são compatíveis com a posição anormal do coração no tórax. Provável impregnação digitálica. (Laudo fornecido pelo Dr. Aloysio Meirelles de Miranda).



Radiologia: (figs. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9).

As radiografias do tórax revelaram (figs. 2 e 3): deformidade do arcabouço costal direito, à altura da 5.ª, 6.ª e 7.ª costelas, que estão repuxadas para dentro. A 6.ª costela é incompleta, dela existindo apenas um segmento do arco posterior e outro terminal do arco anterior. Coluna vertebral com escoliose de concavidade direita no segmento dorsal. Opacificação completa do hemitórax direito, por sombra homogênea e completamente rádio-opaca. Mediastino muito desviado para a esquerda, com grande deslocamento do coração para o mesmo lado, reduzindo-se o parênquima do pulmão esquerdo a cêrca da metade da sua extensão radiològicamente visível normal. Êste parênquima apresenta sombras de tamanho variado, com forma redonda, em número de 7 ou 8. O diâmetro das sombras, que são bem delimitadas, não excede ao de uma moeda de 2 cruzeiros. A traquéia está desviada para a esquerda, tendo sua luz bastante reduzida a partir do nível da fúrcula esternal. Esta redução da luz é gradual, estando o contôrno direito da traquéia com forma convexa para dentro e o esquerdo inalterado. A fig. 3, com esôfago contrastado, além das alterações da radiografia da fig. 1, objetiva um desvio para a esquerda também do esôfago.

As radiografias dos ossos dos membros (figs. 4, 5, 6, 7, 8 e 9) revelaram: periostose dos ossos longos (sendo poupadas as falanges terminais), formando cristas ósseas descontínuas ao longo dêsses segmentos. Cúbito e rádio: em algumas regiões nota-se um espaço delgado,

não ossificado, separando a compacta do osso néo-formado. Em outras regiões a sombra da periostose é contínua com a da compacta. As bainhas ósseas néo-formadas são muito irregulares em espessura, tendo o contôrno correspondentemente irregular. Algumas zonas dos ossos

não apresentam a periostose, mas apenas uma delgada linha ossificada, como se fôsse uma periostite. A estrutura do osso néo-formado, em certas regiões, é constituida por uma superposição de diversas camadas ósseas, delgadas, de sentido longitudinal e paralelo à diáfise dos ossos

comprometidos. Nas outras regiões a periostose não apresenta esta estrutura em camadas superpostas. Osteoporose das extremidades inferiores do rádio e cúbito. Nas falanges e metacarpianos existe o mesmo aspecto da periostose. Moderado gráu de osteoporose dos ossos do

carpo. Para os outros ossos longos cabe a mesma descrição do aspecto radiológico. Deve-se notar, entretanto, nas radiografias das figs. 5 e 6, uma deposição de cálcio em tecidos moles circundantes do terço superior dos úmeros.

A terapêutica instituida consistiu em administração de um cardiotônico de ação rápida, um diurético mercurial, sedativos, proteinas, ferro, dieta assódica e tenda de oxigênio.

DISCUSSÃO

Tínhamos em mãos, assim, um caso complexo em que foram isoladas uma síndrome circulatória, uma respiratória, uma mediastínica e uma osteo-perióstica. A primeira era integrada pela taquicardia de 132 batimentos por minuto, pelo ritmo de galope, pelos edemas, pela oligúria e pela convergência das cifras tensionais. O eletrocardiograma não trouxe contribuição para o esclarecimento do caso. O fígado, palpável a 1 dedo transverso do rebordo costal direito, na linha hemiclavicular, não estava, evidentemente, distendido por congestão passiva proporcional à edemaciação intensa do paciente, atribuida a uma síndrome de retôrno, como se verá adiante. A dispnéia e a cianose, assim como os dedos com acentuado gráu de deformidade hipocrática, poderiam figurar na síndrome circulatória. Dispnéia, cianose e dedos hipocráticos são dados observados em doenças cardíacas. Os dois primeiros podem surgir em qualquer insuficiência cardíaca descompensada grave; os dedos hipocráticos muito raramente aparecem em insuficiências cardíacas por lesões oro-valvulares (a não ser nos casos das endocardites

bacterianas), miocardites crônicas, etc., mas são comuns nas cardiopatias congênitas, descompensadas ou não. Nosso doente tinha uma história em que nada se percebia sugerindo uma cardiopatia congênita. Além do mais a deformação hipocrática dos dedos começou a ser notada só quando apareceu o cortêjo sintomático da doença atual. De modo que os dedos hipocráticos deveriam relacionar-se com as síndromes respiratória e mediastínica. Embora haja uma referência, na história, a um provável reumatismo, o exame do coração não revelava alterações atribuíveis a uma lesão oro-valvular. Levando tudo isto em consideração, e mais ainda a ausência de outras causas de insuficiência cardíaca por lesão do próprio coração, encarou-se a síndrome circulatória como secundária às sindromes mediastínica e respiratória.

Havia sinais de exclusão funcional completa do pulmão direito: abolição do murmúrio vesicular e macicez absoluta em todo o hemitórax direito, com abolição também do frêmito tóraco-vocal. Nesta abolição funcional tomaria parte importante um grande hidrotórax, por detrás do qual estava difícil imaginar o que haveria. Raciocinamos inicialmente na suposição de que o hidrotorax seria mais uma das expressões da síndrome circulatória (lamentàvelmente, não foi possível medir-se a pressão venosa).

Como básica e fundamental no quadro clínico, entretanto, encaramos a síndrome mediastínica, cuja expressão clínica era encontrada na disfagia, na cornagem e no desvio do coração para a esquerda. Pensamos que a mesma causa do desvio do coração e da disfagia irritasse e comprimisse a traquéia, provocando a cornagem. Esta causa seria uma ou mais tumorações mediastínicas. Assim, encarávamos como possíveis causas da síndrome a doença de Hodgkin, (embora clìnicamente pouco houvesse dela), um câncer esofagiano de crescimento mediastínico, comprometendo a rede ganglionar local, um câncer do aparêlho respiratório (carcinoma broncogênico). Pensou-se mesmo em tuberculose pulmonar, com grande linfadenite mediastínica, apezar de na história nada encontrarmos que sugerisse a existência de um estado infeccioso como a tuberculose pulmonar. Com o auxílio das radiografias, confirmava-se a síndrome mediastínica, com o desvio do mediastino e a anulação funcional do pulmão direito. Via-se que havia imagens típicas de câncer metastático no pulmão esquerdo. As deformidades costais eram devidas, certamente, à pleurite que o doente sofrera, e superpunham-se às deformidades torácicas assinaladas na observação. A ausência de quase dois terços da 6.ª costela sugere uma toracotomia, com ressecção daquêle arco costal, realizada quando o paciente teve o pleuris. As imagens de câncer metastático no parênquima pulmonar esquerdo foram interpretadas como metástases de um tumor maligno com sede no pulmão direito. Quanto à opacificação de todo o hemitórax direito, a interpretação era problemática. O exame radiológico contrariava a existência de uma atelectasia pura total do pulmão direito, pois o mediastino estava empurrado para a esquerda, e não puxado para o lado opacificado, como acontece na atelectasia pura. Faltavam, além disso, outros sinais de atelectasia. Ainda não estava afastada a hipótese

de haver um derrame pleural extenso, responsável, pelo menos em parte, por aquela opacificação. Resolveu-se, por isso, fazer uma punção pleural, com finalidade terapêutica e semiótica. Realizou-se a punção em três níveis diferentes do hemitórax, mas só se obteve, num dêles, (ao nível da linha axilar posterior no 9.º intercosto), menos de 1 cm^3 de sangue. Êste coagulou-se e tinha características de sangue vascular.

Sob a ação do diurético mercurial administrado, o paciente teve uma diurese de 2 650 cm^3 nas primeiras 24 horas de internação. Observamos, entretanto, que o grande aumento de volume de seus membros não poderia ser atribuido sòmente aos edemas: êstes haviam regredido notàvelmente, e desaparecera a formação dos "godet" pela pressão digital das regiões edemaciadas. Mesmo assim os membros permaneceram muito grandes: os antebraços eram excessivamente grossos, tendo havido desaparecimento quase completo da diferença de eixos transversos entre os punhos e as mãos; os dedos eram extremamente engrossados, e as unhas, com cianose discreta, representavam o mais acentuado gráu de unhas em vidro de relógio que jamais víramos. Do mesmo modo, a perna direita era muito grossa, e a articulação tibio-tarsiana tinha sua mobilidade muito diminuida, aparentemente devido a uma hipertrofia dos tecidos moles circundantes. O pé, também de volume exagerado, possuia os artelhos muito engrossados, com unhas alargadas e cianóticas. Tôdas estas alterações passaram-nos desapercebidas inicialmente, ocultas pelos edemas. Via-se agora que a edemaciação não era tão acentuada: desaparecera com a medicação usada, e, no entanto, os membros permaneciam muito aumentados de volume. Tanto era assim, que nossa primeira idéia foi de que se tratasse de acromegalia, embora não notássemos alterações de volume na língua e mandíbula. Realizou-se uma radiografia da sela túrcica, a qual encontrava-se normal. Êstes sinais morfológicos são característicos de um quadro completo e acentuado de osteopatia tóxica hipertrófica, (é interessante lembrar que o primeiro caso descrito por P. Marie estava diagnosticado de acromegalia). De todos os modos, era estranha a morfologia acromegalóide do nosso paciente associada a um tão intenso grau de hipocratismo digital cianótico. Ao mesmo tempo, faltavam outros sinais de acromegalia. Os sinais morfológicos da doença de P. Marie-Bamberger — nìtidamente presentes em nosso caso — constituem um dos grupos de sinais e sintomas desta osteopatia, segundo a divisão de Bariéty e Coury, que os classificaram em morfológicos, osteoperiósticos (radiológicos), neuro-simpáticos, e "artríticos".

As alterações radiológicas, já descritas acima para o presente caso, são as que caracterizam uma síndrome completa e intensa de osteopatia hipertrófica. É nestas formas, ou nas crônicas de longa duração (ainda segundo Bariéty e Coury), que se observa tanto a formação de grandes cristas periostóticas irregulares, cuja sombra é contínua com a da compacta, como a ausência de lesões articulares radiològicamente visíveis. As formas iniciais, discretas, são caracterizadas por pequenas alterações, localizadas, no periósteo de ossos longos. Por outro lado,

chama a atenção em nosso caso, a calcificação de partes moles próximas ao terço superior dos úmeros; a deposição de cálcio em partes moles é um aspecto da doença já observado algumas vêzes.

As manifestações artríticas são de grande importância. Não faltaram em nenhum dos 25 casos de Bariety e Coury nos quais a síndrome foi completa, e já em 1915 Locke observou um caso em que houve precedência dos sinais artríticos sôbre o aparecimento de um câncer pulmonar por 4 anos. Em nosso caso não faltaram sintomas referentes às articulações. Era uma queixa freqüente do doente, a de dores na perna, mesmo depois de internado. Não duvidamos, entretanto, de que êles faziam parte do quadro da osteopatia. Estas dores, articulares ou dos membros, são às vêzes mal definidas, outras vêzes são atrozes e intensas. Pattison, Toledo, Beck, e Miller, no J.A.M.A., em 1951, apresentaram 6 casos (com mais 2 num addendum) em que os sinais de osteopatia tóxica precederam de 8 a 11 mêses os de câncer pulmonar (carcinomas broncogênicos), e citaram 4, de Craig, na mesma situação. Muitos dêsses doentes, durante muito tempo, são tratados como artríticos. Outros são julgados acromegálicos, até o dia em que aparecem os sintomas e sinais diretos de uma neoplasia pulmonar. Justamente nisto reside a grande importância do conhecimento da oesteopatia hipertrófica: ela poderá ser um meio de diagnóstico precoce de câncer pulmonar, em alguns casos. Aconselham por isto, vários autores, a que sempre se tome cautela com artrites muito rebeldes ao tratamento, do mesmo modo que com o aparecimento de alterações hipocráticas dos dedos, na ausência de uma explicação plausível. (Pareceu-nos ser predominante, entre os autores que se ocuparam do assunto, a opinião de que o hipocratismo digital é um primeiro grau de osteopatia tóxica hipertrófica).

Ainda não foi encontrada nenhuma alteração bioquímica característica desta doença óssea. Em nosso caso chamou-nos a atenção a calcemia um pouco baixa (8 mg.%), com fosforemia normal e fosfatase alcalina alta (10.7 U. Bodansky). Na série de casos de osteopatia completa recolhidos por Bariéty e Coury, entre casos dêles próprios e de outros, há dois casos com a calcemia inegàvelmente baixa. Um dêles, em que a doença torácica era epitelioma bronco-pulmonar, apresentava calcemia de 6.7 mg.% e outro (dilatação brônquica e catarata endócrina) de 7.4 mg.%. Houve outros 5 casos em que a calcemia foi inferior a 9 mg.% e superior a 8. Os autores citados não as consideraram como baixas. A fosforemia foi baixa em 2 casos (2 e 2,8 mg. %, respectivamente). Quanto à fosforemia alcalina, ainda na mesma série, foi encontrada elevada num caso de epitelioma bronco-pulmonar (14.5 U. Bodansky), num de supuração pleural tuberculosa com amiloidose (9.6 U. Bodansky) e em outro de epitelioma mediastínico-pulmonar de células mucíparas (7.9 U. Bodansky). Num dos casos em que o cálcio sanguíneo foi baixo (o de 7.4 mg.%), a fosfatase alcalina foi de 9.6 U. Bodansky, e o fósforo sanguíneo de 5.06 mg.%. A lesão torácica era dilatação brônquica e catarata endócrina. Em outro caso a calcemia foi de 6.7 mg.%, o fósforo 5.3 mg.% e noutra dosagem 5.2 mg.%.

Nêste caso não foi realizada a determinação da fosfatase alcalina; a lesão torácica era epitelioma bronco-pulmonar. Em nosso caso, a calcemia foi de 8 mg.%, a fosforemia de 3.4 mg.% e a fosfatase alcalina 10.7 U. Bodansky, e a lesão torácica — determinada pelos estudos anátomo-patológico posteriores — foi um mixocondrosarcoma. Embora na maioria dos casos não se observem alterações desta natureza, nota-se que em alguns alteram-se as relações normais entre o cálcio e fósforo sanguíneos, e a fosfatase alcalina. Essas alterações, ao que tudo indica, não dependem da natureza anátomo-patológica da lesão torácica. A explicação do significado de tais dados na interpretação do quadro da osteopatia tóxica hipertrófica de P. Marie-Bamberger, assim como seu papel na patogenia, foge à finalidade dêste relato.

Os dados fornecidos pela hematologia periférica, assim como pelo exame de urina e restantes elementos da bioquímica do sangue, são completamente desprovidos de especificidade, como no nosso caso.

O estudo anátomo-patológico do presente caso, realizado pelo Dr. Eitel Duarte, trouxe nova luz ao caso. Eis, em resumo, o resultado daquêle estudo: o hemitórax direito estava completamente ocupado por uma massa de côr branco-acinzentada, com muitas aderências à parede do tórax. Não foi encontrado líquido na cavidade pleural. Existia uma pequena fímbria de tecido pulmonar de estrutura semelhante à de um pulmão normal. A massa tumoral empurrava o mediastino para a esquerda, e comprimia os órgãos do mediastino posterior. Não havia corrosão de costelas. A pleura estava transformada num tecido de aspecto semelhante ao do tumor. Ao corte a massa tumoral apresentava a mesma côr branco-acinzentada, com pequenas áreas de calcificação. Havia cistos pequenos, alguns contendo um líquido hemorrágico, outros um líquido de aspecto mucoso. Nos ossos longos era notável a espessura da cortex, 2 vêzes mais longa que o normal. Nos outros órgãos, macroscòpicamente, nada se encontrou de importante.

Estudo microscópico:

Pulmões: mixocondrosarcoma metastático. O tumor ocupa quase todo o pulmão e apresenta extensas áreas com aspecto condrosarcomatoso, áreas mixosarcomatosas e áreas de sarcoma de células gigantes. As áreas de condrosarcoma estão freqüentemente calcificadas. Vêem-se também zonas de ossificação.

Coração: sem alterações dignas de nota.
Fígado: hiperemia passiva. Degeneração gordurosa.
Baço: hiperemia passiva.
Gânglio linfático: hiperemia passiva. Linfadenite crônica.
Rins: hiperemia passiva.
Suprarenal: hiperemia passiva.
Ossos metacarpianos: periostite hiperplásica.

À luz dêste resultado, é possível suspeitar-se de que a história da amputação da perna esquerda não foi bem contada pelo paciente. A natureza histopatológica do tumor maligno indica sua origem óssea.

Com quase tôda a certeza, quando o doente sofreu a fratura que obrigou à amputação do membro, já teria o tumor primitivo num dos ossos da perna, provàvelmente o fêmur. As fraturas patológicas, como se sabe, são comuns como primeiro sintoma de um tumor ósseo. Não é de estranhar, portanto, que no nosso doente o tumor primitivo tivesse se denunciado por uma fratura patológica. Apesar de tôdas as dificuldades do diagnóstico exato pelos dados clínicos, o paciente faleceu com o diagnóstico de carcinoma broncogênico, e as imagens metastáticas no pulmão esquerdo tinham sido interpretadas como metástases do pulmão direito, com os dados do estudo anátomo-patológico, vemos que não podemos assegurar se aquelas metástases vinham do pulmão direito ou se do próprio tumor primitivo.

De certo modo, causa espécie o fato da ausência de dor torácica em tôda a evolução da doença. Ainda mais quando o tumor, ocupando todo o hemitórax, em íntimo contacto com a pleura parietal, deveria ter irritado as terminações nervosas desta pleura. Fica como uma interrogação a possibilidade de a ausência de dor ser explicada por uma transformação em tecido conjuntivo pobre em terminações nervosas da pleura parietal em conseqüência da pleurite que o doente sofrera.

Sem dúvida alguma, o aspecto mais interessante dêste caso é o processo ósseo, em que a instalação da osteopatia, com a síndrome completa, realizou-se em pouco tempo. Encontramos, citados por Bariéty e Coury, casos que se instalaram em questão de dias. No nosso caso, o processo desenvolveu-se com grande intensidade, pois em poucos mêses instalou-se uma forma absolutamente completa e acentuada da osteopatia.

Agradecemos a cooperação dos Drs. Julio Magalhães e João Fortes para a parte radiológica, e ao Dr. Genard Nobrega, chefe do nosso serviço, pelo apôio prestado.

SUMÁRIO

O A. descreve um caso de mixocondrosarcoma pulmonar metastático associado a um quadro completo de osteopatia tóxica hipertrófica. Focaliza as dificuldades diagnósticas devidas à evolução silenciosa do tumor, que à autópsia verificou-se ocupar todo o hemitórax direito. Chamou a atenção para a importância da osteopatia hipertrófica como possível denunciadora de um câncer pulmonar primitivo ou metastático que ainda não produziu sintomas.

SUMMARY

The author describes a case of metastatis pulmonar mixocondrosarcome associated to a complete picture of a hypertrophic toxic ostheopathic condition. Reference is made to the difficulties observed in its diagnosis, due to the silent evolution of the tumor, which through the

autopsy was found to spread all over the right hemitorax. Attention is called to the importance of hyperthophic ostheopathy as a possible indication of a primitive or metastatic pulmonar cancer, still without symptoms.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. Locke, Secondary hypertrophic osteo-arthropathy and its relation to simple club-fingers. *Arch. Int. Medicine,* 1915-15, 659 (maio).
2. Mendlowitz, Clubbing and hypertrophic osteoarthropathy. *Medicine,* 1942, 269-306 : 21.
3. Pattinson Jr., Toledo, Erwiin, e Miller, Hypertrophic osteopathy in carcinoma of lung. JAMA, 146, 783-787, june 1951.
4. Schinz, Baensh, Friedli-Roentgen-diagnostico. 1947. Salvat Editores, S.A.
5. Bariéty & Coury, L'osteoarthropatie hypertrophiante pneumique et les dysacromélies d'origine thoracique. *Sem. Hôp. de Paris,* 1950, 1681-1708.
6. Cecil, *Textbook of Medicine,* 7.ª edição, 1948.

A Botânica no Instituto Oswaldo Cruz

por

Bertha Lutz
Naturalista do Museu Nacional

O Instituto Oswaldo Cruz, *primus inter pares* das nossas instituições científicas destinadas ao estudo da vida, deve a sua origem ao gênio do seu criador. Desde o seu nascimento foi muito feliz. Nos seus primeiros anos foi-lhe ministrada uma formação de príncipe, daquelas que, nos dias monárquicos, eram prodigalizadas aos que seriam mais tarde chamados a assumir a responsabilidade pelo destino dos povos e pelo progresso da civilização. Teve como mentores uma plêiade de sábios que avocaram a grata tarefa de orientar um grupo de jovens de escol, desejosos de ingressar na carreira árdua e abnegada da pesquisa científica. Desempenharam-se bem. Os mestres conseguiram manter o interêsse dos discípulos e a maioria dêstes chegou a estabelecer boa reputação no domínio escolhido.

Inicialmente votado aos estudos médicos e correlatos, como sejam a Zoologia Médica, indispensável à Médicina Tropical, enveredou o Instituto cêdo pelos caminhos da Zoologia pura, a principiar pela Entomologia e pela Helmintologia. Subseqüentemente, foi alargando o seu campo de ação, seguindo o mesmo processo natural de desenvolvimento pelo qual uma árvore, plantada de boa semente, ultrapassa pouco a pouco a vegetação herbácea e arbustiva para, chegada ao têrmo de seu crescimento, estender seus ramos protetores sôbre o solo do qual brotou Aqueles que, como eu, são hoje dos mais antigos que freqüentam a casa de Oswaldo Cruz e que tiveram o privilégio de conhecer pessoalmente os grandes brasileiros que a fundaram e a soergueram, ainda sentem um bafejo dos dias heróicos aqui vividos e sabem que nos laboratórios e nos corredores ficou captiva uma parcela da personalidade e da tradição estabelecida por Oswaldo Cruz, por Adolpho Lutz e outros já desaparecidos, uns prematuramente como o brilhante Gaspar Vianna, outros nos últimos dias, como o nosso bondoso, sábio e fidalgo auxiliar Joaquim Venâncio, cuja capacidade de observação e intuição biológica eram verdadeiramente excepcionais.

Os trabalhos de Manguinhos sôbre Medicina não podem ser analisados por quem é apenas modesta naturalista. Os de Zoologia nos ramos mais diversos são accessíveis aos estudiosos e abrangem desde a

Parasitologia até a Zoologia pura, p.ex. o estudo da fauna das nossas lagoas de restinga, já aconselhada por DARWIN, mas, que só cento e vinte anos mais tarde, vem sendo iniciada por elementos cultos do Instituto Oswaldo Cruz.

O que certamente é menos conhecido é o estímulo dado em Manguinhos também a outro ramo da Biologia, aquele que em tempos mais amenos era denominado *Scientia amabilis*. Não me refiro à Botânica microscópica, isto é, a Bacteriologia e Micologia, que também têm seus cultores, de excepcional valor e renome, no Instituto Oswaldo Cruz, mas sim à Botânica no sentido legítimo da Flora no nosso país.

Um dos iniciadores dos estudos botânicos em Manguinhos foi ADOLPHO LUTZ. Desde criança, sempre tencionou dedicar a sua vida ao estudo da natureza, conforme declarou várias vezes na correspondência, enviada da Suiça à sua mãe no Brasil, aos dez e aos quinze anos e quando já era estudante da Universidade de Berna. As suas cartas infantis estão cheias de alusões às plantas nativas que florescem e falam demoradamente no seu herbário e no seu pequenino jardim. Quando residiu no Instituto Oswaldo Cruz, enquanto os seus filhos estudavam na Europa, colectou a flora de Manguinhos, ora sepultada sob o asfalto da Avenida Brasil, ou esmagada sob os alicerces da constelação de prédios novos que rodeiam o edifício principal. Nas suas jornadas pelo rio São Francisco e seus afluentes, pelo rio Paraná, pelo Nordeste, não se dedicou exclusivamente ao estudo da patologia regional, nem sequer ao da fauna, mas fez o seu herbário. Assim procedeu também na Venezuela, no Uruguai e sobretudo nas serras costeiras, nos ramos fluminenses, paulistas e mineiros da Serra do Mar e da Mantiqueira, cujas paisagens o encantavam acima de tudo quanto conheceu ao percorrer o Brasil.

Outras figuras tradicionais de Manguinhos também se interessaram pela ciência de LINEU, entre êles ARTHUR NEIVA, OLYMPIO DA FONSECA, o Professor HENRIQUE ARAGÃO, que homenageamos neste volume e o diretor das Memórias, Dr. HERÁCLIDES DE SOUZA ARAÚJO.

Êste, quando estudante em Ouro Preto, *alma mater* das mais nobres entre os estabelecimentos universitários do Brasil, fazia as suas excursões aos domingos, subindo em lombo de burro a Serra do Itacolomi; ali herborizava espécimes botânicos belíssimos; e voltava, à tarde, satisfeito, pelo dia passado ao ar livre e pelo tesouro botânico que conduzia. À noitinha cabia ao futuro leprólogo outro privilégio valioso, o de preparar o seu material na presença e com a assistência do Professor LEÔNIDAS DAMAZIO, da Escola de Minas, dêle obtendo a classificação que hoje acresce mais ainda o valor intrínseco do Herbário Souza Araújo.

O Professor HENRIQUE ARAGÃO, apesar de seu temperamento comedido, e bastante reservado, nutre alguns entusiasmos e o amor às plantas é um dos mais arraigados. Como bom amigo do Professor LUTZ, levou-o a uma fazenda de parentes seus em um dos pontos mais interessantes da serra da Mantiqueira, chamado Pacáu. Lá cada um dêles fez o seu Herbário, o Professor LUTZ em 1913 e o Professor ARAGÃO

em 1914, abrangendo o Morro da Mira e os belíssimos Campos de Safira, um pouco mais distantes. Colheram exemplares da flora adaptada às culminâncias e à pradaria alpina. De lá trouxeram dipteros e por certo também boas recordações.

Os Drs. Henrique Aragão e Souza Araújo, conhecedores do grande aprêço em que o velho Lutz tinha o seu herbário, ofertaram-lhe as suas coleções, hoje incorporadas, com os nomes e os números dos colecionadores, no mais amplo Herbário Lutz. Tornando-me, mercê das circunstâncias, guardiã hereditária dêsse acervo precioso, cuidei de examiná-lo e de mantê-lo, desde o dia em que, ainda em vida do Dr. Lutz, o seu sucessor no laboratório, solicitou-me que o retirasse, porque ocupava espaço demais. Muitas plantas tinham sido prejudicadas pela ação do tempo e do gorgulho, desde que um acidente de caçada privou o Dr. Lutz, alheio ao fato, de seu auxiliar, José Vasconcellos, que também gostava de botânica. Outros espécimes conservaram-se perfeitamente. Êsse Herbário, de mais de dois mil números, que abrange coleções de três cientistas de Manguinhos, acha-se hoje todo rotulado de novo e numerado, com a colaboração da Divisão de Botânica Sistemática do Jardim Botânico e de auxiliares meus. Já foi em parte estudado por botânicos brasileiros e estrangeiros, enquanto que parte ainda está em estudo na Europa e nos Estados Unidos e outra aguarda especialistas. Espero, porém, em breve, o dia, em que esta, como as outras coleções científicas deixadas por Lutz em Manguinhos, possam ser catalogadas definitivamente e publicadas.

Surpreendida com o convite, sumamente honroso, de apresentar um trabalho que, forçosamente terá de ser modesto e humilde, para o volume Comemorativo do Décano de Manguinhos, Professor Henrique de Beaurepaire Aragão, lembrei-me do título acima e das observações aquí consignadas para que sirvam de prefácio à apresentação de uma lista das plantas colhidas por Aragão e por Lutz em Pacáu e por Aragão nos Campos de Safira, mais ao Norte. É uma coleção ecléctica, como o demonstra a proporção de famílias para a de gêneros e espécies, mas, com a febre de devastação que campeia em nossa terra, tôda relação de plantas que vivem, ou que viveram, em sítio determinado, constitui um pequeno subsídio ao conhecimento da Flora do Brasil.

Antes de passar a relacioná-las, desejo enaltecer o espírito de bom conservacionista da flora e fauna que anima o Professor Henrique Aragão; referir-me ao belo arvoredo por êle plantado na velha fazenda de Manguinhos, o qual, tendo melhor chance de sobrevivência que as plantas raras trazidas pelo Dr. Lutz, forma hoje um bosque florido em redor dos laboratórios. Desejo finalmente recordar o grande estímulo dado por Aragão, não só aos estudos zoológicos, maxime oceanográficos, do Prof. Pierre Drach, de Lejeune de Oliveira e Luiza Krau, mas também às investigações botânicas, ecológicas e genéticas de outros novos elementos que honram igualmente a tradição da casa, os Drs. Oliveira Castro, Henrique P. Velloso e Lobato Paraense. Apologistas do néo-evolucionismo, localizam a criatura dentro de seu ambiente para melhor investigá-la.

E assim Manguinhos, instituição privilegiada em suas origens, em seus destinos e em suas tradições, além de impulsionar a Medicina científica e a Zoologia Médica, também impulsiona a Biologia pura, o estudo não só da Fauna mas também da Flora Brasílica.

SUMMARY

The Instituto Oswaldo Cruz, known as Instituto de Manguinhos during the life-time of its founder, is *primus inter pares* among the biological research institutions of Brazil. It had a good beginning, for a number of outstanding men were brought together to lay the foundations of a school of research. Future scientists were selected among the most promising young medical men. In half a century, it has assumed leadership, in Tropical Medicine and Zoology, and in pure Biology as well.

Several of the scientists have been interested in Botany, foremost among them Dr. Lutz, who always collected plants and studied the flora wherever he went, and left a Herbarium of about two thousan plants. Drs. Henrique Aragão and Souza Araújo, also collected in Minas, and gave their collections to Dr. Lutz. A list of the plants collected by Aragão and Lutz on the Serra da Mantiqueira, at Pacáu, where Dr. Aragão's family had a fazenda, especially at two interesting points, Morro da Mira and Campos de Safira, is given below.

Tribute is paid to Dr. Aragão, Dean of the living research workers of the Instituto Oswaldo Cruz, for the stimulus, which as Director, he gave to non-medical, biological research, including Oceanography Limnology and especially Plant Ecology.

A excursão do Dr. Lutz foi empreendida em 20-28-Fev.-1913.

As plantas do Dr. Aragão são de Fevereiro de 1914.

Altitudes aproximadas indicadas pelo Dr. Aragão: Pacau, app. 1 250 msm; Morro da Mira, app. 1 500 msm. Campos de Safira, app. 1 000 msm. App. 22º 5' S. e 44º 10' W.Gr.

ACANTHACEAE

— *Odontonema barlerioides* Nees
leg.: Adolpho Lutz n. 381
det.: Rizzini, Lutz det.: *Thyrsacanthus sp.*

AMARANTHACEAE

2 — *Gomphrena sp.*
leg.: Henrique Aragão, n. 1 — Herbário Lutz n. 2 151, Campos de Safira.
det.: Graziela Maciel Barroso

3 — *Amaranthaceae*
leg.: Lutz n. 383

ANNONACEAE

4 — *Gautteria australis St. Hil.*
det.: A. Lutz n. 384

APOCYNACEAE

5 — *Mandevilla moricandiana* (DC.) Woods.
leg.: A. Lutz, 385 Herbário Lutz n. 385
det.: F. Marcgraf.
Obs. A. Lutz: "não se determina pelo Martius"

CAMPANULACEAE

6 — *Siphocampylus verticillatus* Don
leg.: A. Lutz n. 386
det.: A. Lutz.

CARYOPHYLLACEAE

7 — *Spergularia campestris* Will
leg.: A. Lutz n. 387 "Na horta"
det.: A. Lutz

8 — *Stellaria sp.*
leg.: A. Lutz n. 388
det.: A. Lutz

COMPOSITAE

9 — *Achyrocline* sp.
leg.: Henrique Aragão, 3. Herb. Lutz n. 2 153. Campos de Safira.

10 — *Baccharis sp.*
leg.: Henrique Aragão, 4. Herb. Lutz, n. 2 154. Campos de Safira.

11 — *Baccharis sp.?*
leg.: Henrique Aragão, 5. Herb. Lutz, n. 2 155. Campos de Safira.
"Espécie muito lanuginosa" (Obs. B. Lutz).

12 — *Baccharis sp.*
leg.: Henrique Aragão, 6. Herb. Lutz n. 2 156. Campos de Safira.

13 — *Baccharis sp.*
leg.: Henrique Aragão, 7. Herb. Lutz n. 2 157.

COMPOSITAE

14 — *Eupatorium palustre* Baker
leg.: A. Lutz n. 389
det.: Graziela Maciel Barroso

15 — *Gnaphalium purpureum* L.
leg.: Henrique Aragão, n.º 8. Herb. Lutz n. 2 158. Campos de Safira.
det.: Graziela Maciel Barroso

16 — *Mikania subverticillata* Sch. Bip. ex Baker
leg.: Henrique Aragão, n.º 9. Herb. Lutz n. 2 159.
det.: Graziela Maciel Barroso

17 — *Oligandra lycopodioides* Less.
leg.: Henrique Aragão n.º 10. Herb. Lutz n. 2 160
det.: Mello Barreto

18 — *Trichocline polymorpha* Baker
leg.: A. Lutz n. 390
det.: Graziela Maciel Barroso

19 — *Vernonia lacunosa* Mart.
leg.: Henrique Aragão, 11. Herb. Lutz n. 2 161. Campos de Safira.
det.: Graziela Maciel Barroso

20 — *Vernonia linearis* Spreng.
leg.: Henrique Aragão, 12 n. 2 162.
det.: Graziela Maciel Barroso

21 — *Vernonia pedunculata* DC.
leg.: A. Lutz n. 391
det.: Graziela Maciel Barroso

22 — *Vernonia sp.*
leg.: Henrique Aragão, 13 n. 2 163.

23 —
leg.: Henrique Aragão, 2, H. Lutz n. 2 152. Campos de Safira.
Obs. B. Lutz: "muito lanuginosa"

CYPERACEAE

24 —
leg.: A. Lutz n. 392
obs. A. Lutz, "Campos húmidos"

25 —
leg.: A. Lutz n. 393

ERICACEAE

26 — *Gaylussacia densa* Cham.
leg.: A. Lutz n. 394. Morro da Mira.
det.: Sleumer

EUPHORBIACEAE

27 — *Phyllanthus rosellus* Muell Arg.
leg.: A. Lutz n. 395. Morro da Mira.
det.: W. A. Egler

FLACOURTIACEAE

28 — *Cassaria inequilatea*, Comb.
leg.: A. Lutz n. 396
det.: Sleumer

GENTIANACEAE

29 — *Calolisianthus amplissimus* (Mart.) Gilg
leg.: Henrique Aragão, 14. Herb. Lutz, n. 2 164. Campos de Safira.
det.: A. C. Brade

GESNERIACEAE

30 — *Vanhouttea pardina* (Dcsne) Leur.
leg.: A. Lutz n. 397. Morro da Mira.
det.: Graziela Maciel Barroso

31 —
leg.: Henrique Aragão, 15. Herb. Lutz, n. 2 165. Campos de Safira.

GUTTIFERAE

32 — *Clusia sp.*
leg.: A. Lutz n. 398

IRIDACEAE

33 — *Herbertia umbellata?*
leg.: A. Lutz n. 399
Obs. A. Lutz "flôr amarela"

34 — *Sisyrhinchium n. sp.?*
leg.: Henrique Aragão, 16. Herb. Lutz n. 2 166. Campos de Safira

LABIATAE

35 — *Rhabdocaulon lavanduloides* (Benth.) Epling. var. *villosus* (Benth.) Epling
leg.: Henrique Aragão, 17. Herb. Lutz n. 2 167. Campos de Safira.
det.: A. C. Brade

36 — *Salvia itatiaiensis* Dusen
leg.: A. Lutz n. 400
det.: A. C. Brade

37 — *Salvia macrocalyx* Gardn.
leg.: A. Lutz n. 401
det.: A. C. Brade

38 — *Salvia viscida*
leg.: A. Lutz n. 402
det.: C. E. Epling

LAURACEAE

39 — *Persea punctata* Meissn.
leg.: A. Lutz n. 403
det.: Ida de Vattimo

LEGUMINOSAE PAP.

40 — *Camptosema bellum* Benth.
leg.: A. Lutz n. 404
det.: Graziela Maciel Barroso

41 — *Centrosema coriaceum* Benth.
leg.: Adolpho Lutz n. 405
det.: Graziela Maciel Barroso
Obs. A. Lutz: "Planta rasteira dos campos"

LENTIBULARIACEAE

42 — *Utricularia subulata* L.
leg.: A. Lutz n. 406
det.: Taylor

LORANTHACEAE

43 — *Struthanthus sp.*
leg.: A. Lutz n. 407

LYTHRACEAE

44 — *Diplusodon virgatus* Pohl
leg.: Henrique Aragão, 18. Herb. Lutz n. 2 168. Campos de Safira.
det.: Graziela Maciel Barroso

MELASTOMATACEAE

45 — *Chaetostoma pungens* (Mart. et Schr.) DC.
leg.: A. Lutz n. 408
det.: Mello Barreto

46 — *Lavoisiera compacta* (Mart. et Schr.) DC.
leg.: A. Lutz n. 409
det.: Mello Barreto
Obs. parte marcada "com flores alva" e outra parte "com flores encarnadas" (B. Lutz)

47 — *Leandra quinquenodis* (DC.) Cogn.
det.: A. C. Brade et Marcgraf

49 — *Miconia* sp.
leg.: Henrique Aragão, 19. Herb. Lutz n. 2 169. Campos de Safira.
leg.: A. Lutz n. 410

49 — *Miconia sp.*
leg.: Henrique Aragão, 20. Herb. Lutz. n. 2 170. Campos de Safira.

50 — *Microlicia fasciculata* Mart.
leg.: Henrique Aragão, 21. Herb. Lutz n. 2 171. Campos de Safira.
det.: A. C. Brade

51 — *Microlicia isophylla* (Cham.) DC.
leg.: A. Lutz n. 380 = 411
det.: Mello Barreto
Obs. A. Lutz: "no morro, nas Pedras"

52 — *Tibouchina clinopodiifolia* (DC.) Cogn.
leg.: A. Lutz n. 412
det.: A. C. Brade et Marcgraf

53 — *Tibouchina collina* (Nd.) Cogn.
leg.: A. Lutz n. 413
det.: A. C. Brade et Marcgraf
Obs. A. Lutz "nos campos, planta baixa"

54 — *Tibouchina frigidula* (DC.) Cogn.
leg.: A. Lutz n. 414
det.: A. C. Brade

55 — *Trembleya phlogiformis* DC.
det.: A. C. Brade et Marcgraf

ORCHIDACEAE

56 — *Habenaria macronectar* (Vell.) Hoehne
leg.: A. Lutz n. 415, ex. 385
det.: G. Pabst
Obs. A. Lutz "nos campos"

PASSIFLORACEAE

57 — *Passiflora canescens* Killip.
leg.: A. Lutz n. 416
det.: A. P. Duarte

POLYGALACEAE

58 — *Polygala cuspidata* DC.
leg.: Henrique Aragão, 13; Herb. Lutz n. 2 173. Campos de Safira.
det.: A. C. Brade

RUBIACEAE

59 —
leg.: A. Lutz n. 417.
Morro da Mira.

60 —
leg.: A. Lutz n. 418

SCROPHULARIACEAE

61 — *Büchnera elongata* Sw.
leg.: A. Lutz n. 419.
det.: Graziela Maciel Barroso

SOLANACEAE

62 — *Cestrum courymbosum* Schlecht.
leg.: A. Lutz n. 420
Obs. A. Lutz "arbusto, mata, parece um tanto variável".

63 — *Schwenckia curviflora* Benth.
leg.: A. Lutz n. 421
Obs. A. Lutz "Flôr verde-amarela, no brejo".

64 — *Solandra grandiflora* Sw.
leg.: A. Lutz n. 422
Obs. A. Lutz "Flor de árvore da mata. Côr branco-amarelado".

65 — *Solanum argenteum* Dun.
leg.: A. Lutz n. 423
det.: Graziela Maciel Barroso
Obs. A. Lutz "Arbusto da mata"

UMBELLIFERAE

66 — *Hydrocelyte quinqueloba* Radd. var *angulata* Urb.
leg.: A. Lutz n. 424. Morro da Mira.
det.: A. C. Brade

VERBENACEAE

67 — *Verbena hirta* Spreng.
leg.: Henrique Aragão, 24. Herb. Lutz n. 2 174 (ex. 2 287). Campos de Safira.
det.: A. C. Brade et Graziella Maciel Barroso, conf. H. Moldenke.

68 — *Verbena lobata* Vell. *v. hirsuta* Moldenke.
leg.: A. Lutz n. 425 (ex. 393)
det.: H. N. Moldenke.

Alguns aspectos citológicos da Leptospira Icterohaemorrhagiae em microscópio eletrônico

por

Mário Santos e Hans Muth
Instituto Oswaldo Cruz.

O estudo morfológico da leptospira tem apresentado resultados sujeitos a controvérsias por inúmeros autores.

Depois da utilização rotineira do microscópio eletrônico um novo impulso foi dado às referidas investigações e o presente trabalho é uma pequena contribuição ao esclarecimento de uma questão tão debatida.

Alguns aspectos interessantes foram observados por diversos autores que procuraram uma explicação biológica para os seus achados. Tood (1) e Petit (2) evidenciaram pequenos grânulos no citoplasma, visíveis ao ultra microscópio, considerados de natureza degenerativa, ao contrário de outros, que julgaram os mesmos grânulos com função no ciclo evolutivo dêste espiroqueta (3).

Babudieri (4) analisando os trabalhos de Jacob (5) e Gieszykiewicz (3) considerou os referidos grânulos como oriundos da concentração hipertônica de cloreto de sódio.

O mesmo autor (6 e 7) em outros dois trabalhos, examinando alterações do citoplasma em culturas velhas não encontrou aspecto particular a não ser quando surge fenômeno de autólise em que o protoplasma se torna mais diáfano assumindo aspecto reticular com raros grânulos opacos distribuidos com certa regularidade ao longo do protoplasma.

MATERIAL E MÉTODO

A amostra utilizada em nossos estudos foi isolada por nós de Rattus norvegicus, amostra 43, e caracterizada como Leptospira icterohaemorrhagiae.

Foi cultivada em meio de Vervoort modificado, em condições de aerobiose e a temperatura de 28 a 30ºC. A semeadura foi feita em balões contendo 50 a 100 ml. do referido meio.

A cultura foi mantida no laboratório pelo espaço de 11 e 12 meses.

Antes de estudarmos a morfologia desta cultura ela foi inoculada em cobaias jovens e feita a semeadura para observarmos vitalidade e virulência.

A referida amostra continuou virulenta, fato interessante que valeu comunicação feita por um de nós (M.S.) á Am. Soc. of Bact.

A cultura foi examinada em campo escuro apresentando os seguintes caracteres: movimentos lentos, espirais dando a impressão de solução de continuidade e numerosos grânulos fora do citoplasma.

Êste material foi então morto pelo formol na concentração de 0,3% e depois centrifugado a 3.600 R.P.M. durante 15 minutos para sedimentar as grandes partículas em suspensão.

O líquido sobrenadante foi decantado e centrifugado novamente a 8.500 R.P.M. durante 30 minutos.

O sedimento foi lavado 3 vezes com água distilada formolada a 0,3% e centrifugado a 8.500 R.P.M. na temperatura $+2^{o}$ durante 30 minutos após o que foi observado ao microscópio eletrônico utilizando a seguinte técnica.

TÉCNICA

Após a fixação com a solução de Formol a 0,3% em água distilada e lavagem com água distilada, o material foi depositado em processo rotineiro sôbre um porta-objeto recoberto pela pelicula de Parlodion (2% em acetato de amila).

O sombreamento foi feito com crômo e sob ângulo indicado em cada micrografia.

O material foi examinado num Microscópio Eletrônico RCA do tipo EMU-2C.

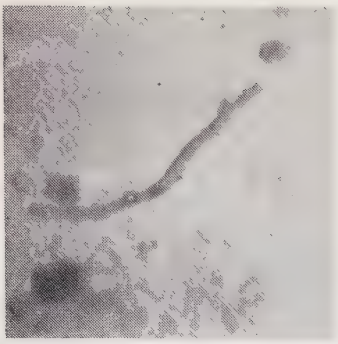
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observamos corpos de leptospira com zonas de condensação do citoplasma assumindo aspecto granular, Figs. 1, 3, 9, 4, 7, 12. Nas figs. 6 e 7 podemos ver com nitidez um dêsses grânulos desmembrando-se do corpo da leptospira e cuja imagem é semelhante a outros grânulos esparsos.

O número dessas formações é variável parecendo depender de muitas causas.

A deformação do corpo da leptospira parece depender da perda de consistência da própria membrana em virtude de alteração da sua permeabilidade fenômeno que deve preceder a formação dos grânulos.

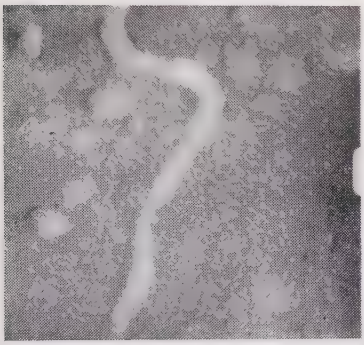
Notamos também nas mesmas condições de experiência, como na fig. 3, que os referidos grânulos tem dois aspectos diferentes: um é o que já referimos de forma irregular e opaco como se fôsse uma imagem de cromatina condensada e outro aspecto é também de forma irregular,



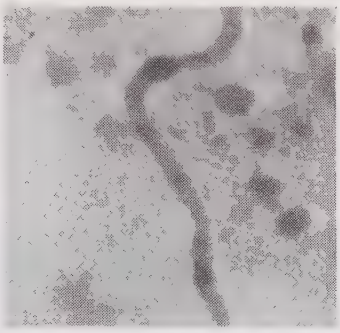
N.º 1
7500: 1 positivo

N.º 2
7500: 1 positivo

N.º 3
7500: 1 positivo



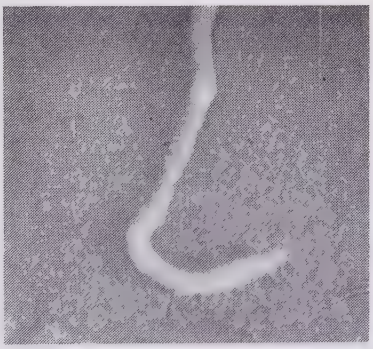
N.º 4
7500: 1 negativo



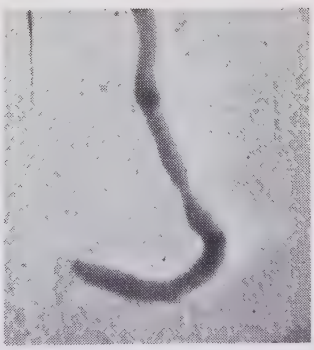
N.º 5
7500: 1 positivo

N.º 6
10500: 1 negativo

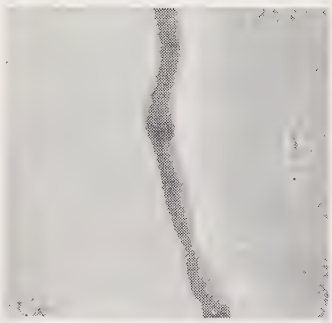
N.º 7
7500: 1 negativo



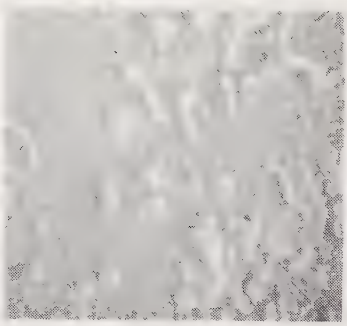
N.º 8
7500: 1 positivo



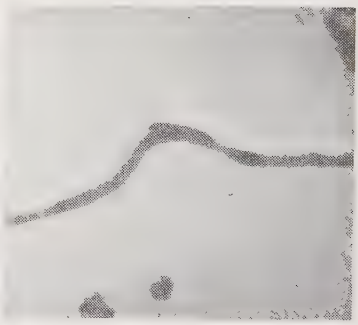
N.º 9
7500: 1 negativo



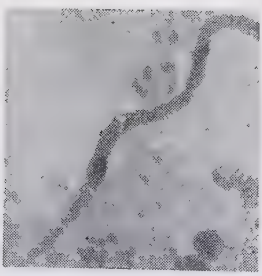
N.º 10
10500: 1 positivo



N.º 11
3600: 1 negativo



N.º 12
6000: 1 positivo



N.º 13
7500: 1 positivo

N.º 14
Original 3600: 1
Ampl. 9600: 1
Negativo

porém transparente como se estivesse esvaziado seu conteúdo primitivo, figs. 5, 7 e 13.

Na fig. 12 observamos o esvaziamento de uma forma destas e o retraimento do seu conteúdo, em outras, observação facilitada com auxílio de lente.

A fig. 2 revela um aspecto freqüente encontrado em trabalhos desta natureza como no trabalho de Czekalowski, J. W. & Eavas, G. (8): Isto é: formação de um grânulo com posterior segmentação do mesmo.

Finalmente a fig. 11 nos mostra grânulos com a mesma densidade que os fragmentos dos corpos da leptospira.

Como dissemos acima, a cultura contendo material com êste aspecto foi inoculada em cobaia cuja hemocultura nos forneceu de novo o germe reisolado, o que faz admitir constituirem êsses grânulos uma fase no ciclo vital da leptospira ou então elemento capaz de manter condições e fatôres necessários a continuidade da espécie.

Na figura 14 observamos um aspecto normal de leptospira.

RESUMO

Os autores estudando culturas de 11 e 12 meses de Leptospira icterohaemorrhagiae, mantidas em meio de Schüffner modificado por Verwoort, observaram em microscópio eletrônico, corpos de leptospira com zonas de condensação do citoplasma assumindo aspecto granular Figs. 1, 3, 4, 9, 7, 12.

Nas Figs. 6 e 7 vemos com nitidez um dêsses grânulos desmembrando-se do corpo da leptospira e cuja imagem é semelhante a outros grânulos esparsos. O número dessas formações é variável, parecendo depender de muitas causas.

A deformação do corpo da leptospira parece depender da perda de consistência da membrana em virtude de alteração da sua permeabilidade, fenomenos que deve preceder á formação dos grânulos.

Notamos também nas mesmas condições de experiência, como na Fig. 3, que os referidos grânulos tem dois aspectos diferentes: um é o que já referimos de forma irregular e opaco como se fôsse uma imagem de cromatina condensada e outro aspecto é também de forma irregular, porém, transparente como se houvesse esvaziado seu conteúdo primitivo, Figs. 5, 7 e 13.

Na fig. 12, observamos o esvaziamento de uma forma destas e o retraimento do seu conteúdo em outra, observação facilitada com auxílio de lente.

A fig. 2 revela um aspecto freqüente encontrado em trabalhos desta natureza como no de Czekalwski, J. W. e Eaves, G., isto é: formação de um grânulo com posterior segmentação do mesmo.

Finalmente a Fig. 11 nos mostra grânulos com a mesma densidade que os fragmentos dos corpos da leptospira.

Como dissemos acima, a cultura contendo material com êste aspecto foi inoculada em cobaias cuja hemocultura nos forneceu de novo o germe reisolado, o que faz admitir constituirem êsses grânulos uma fase no ciclo vital da leptospira ou então elementos capazes de manter condições e fatôres necessários à continuidade da espécie.

SUMMARY

The authors observing "Leptospira icterohaemorrhagiae's culture 11 and 12 months old, maintened in culture medium of Verwoort, modified found interesting aspects evidenced in the electronic microscope.

The authors noticed bodies of leptospira with condensation zones of cytoplasm assuming granular aspect (micrographs 1, 3, 4, 7, 9 and 12).

In the micrographs 6 and 7 we see clearly one of these granules dismembering of the leptospira body whose image looks like that of other granules in the micrographs.

We saw, in some conditions of experience, as in micrograph 3, that the above referred granules have 2 different aspects: one that isn't transparent and with irregular shape, looking like condensed chromatin and the other which has an irregular shape too, but is transparent, as if it had lost part of its primitive contents (micrographs 5. 7 and 13.

In micrograph 2 we see one frequent aspect in works of this kind like that of Czekalwski, J. W. and Eaves G., the granule formation with segmentation following it.

As was said above a culture with this aspect was inoculated into guinea pigs whose hemoculture supplied again the germ isolated which guided us to the idea that these granules are a phase in the vital cycle of the leptospira or elements which can mantain condition and factors necessary to the continuity of the species.

ZUSAMMENFASSUNG

Den Autoren standen fuer ihre Beobachtungen Kulturen von Leptospira icterohaemorragia von 11 bis 12 Monaten Alter in einer Naehrloesung nach Schueffner, abgeaendert nach Verwoort, fuer ihre Beobachtungen im Elektronenmikroskop zur Verfuegung, die ihnen eine grosse Zahl sehr interessanter Bilder lieferten. Sie beobachteten Koerper von Leptospiren mit Bereichen einer Anreicherung des Cytoplasmas, aus der auf eine koernige Struktur gechlossen werden kann. (Abb. 1, 3, 4, 7, 9 und 12) In den Aufnahmen 6 und 7 sehen wir mit Deutlichkeit eines dieser Koernchen, das sich vom Koerper der Leptospire abloest und das in seiner Erscheinung den anderen bereits verteilten Koernchen aehnlich ist.

Die Anzahl dieser Formbildungen ist unterschiedlich und scheint von verschiedenen Ursachen abzuhaengen.

Die Koerperdeformation der Leptospiren scheint abhaengig zu sein von den Verlusten an Festigkeit der Koerpermembran infolge der Aenderung ihrer Durchlaessigkeit, eine Erscheinung, die der Bildung der Koernchen vorausgeht.

Unter denselben Versuchsbedingungen stellten wir fest, dass die Koernchen zwei verschiedene Erscheinungsformen aufweisen (Siehe Bild 3) : eine, auf die wir uns schon bezogen, von unregelmaessiger Form und undurchsichtig, als ob sie aus verdichtetem Chromatin bestuenden, und eine zweite, auch unregelmaessiger Form; jedoch durchscheinend, als ob es den urspruenglichen Inhalt abgestossen haette. (Bild 5, 7 und 13) Aus Elektronenbild 12 ersehen wir die Entleerung einer solchen zweiten Form und auch das Zusammenballen des Inhalts in der Huelle.

Bild 2 zeigt eine Erscheinung, wie man sie haeufig in Arbeiten dieser Art antrifft so bei J. W. Czekalwski und G. Eaves, naemlich die Bildung eines Koernchen mit darauf folgender Teilung desselben.

Bild 11 zeigt uns schliesslich Koernchen der gleichen Dichte wie die der Koerperabschnitte der Leptospiren.

Kulturen, enthaltend Material dieses Aussehens, wurden in Versuchstiere eingeimpft, deren Blutkultur uns von neuem isolierte Keime lieferten, was zu der Annahme fuehrt, dass diese Koernchen eine Zwischenform im Lebenszyklus der Leptospire darstellen und damit ein Element zur Aufrechterhaltung der Art.

Die mikroskopischen Aufnahmen wurden im Oktober 1951 hergestellt.

BIBLIOGRAFIA

1. Todd, L.A., 1919, The granules of Spirochaeta duttoni. *Bull. Soc. Pathol. exotique,* 12 : 595.
2. Pettit, A., 1928, Contribution a L'étude des Spirochétides, pag. 36, vol. I. Chez L'Auteur. Vanves.
3. Gieszczykiewicz, M., 1929, Sur des corpuscules apparaissant dans les cultures de Spirochaeta icterohemorragica Inada et Ido. C.R.S.B., 33 : 217.
4. Babudieri, B., 1948, Richerche sulla cosidette "pseudospore" della leptospira. *Boll. della Soc. Ital. de Biolo. Sper.,* 24 : 727.
5. Jakob, A., 1949, Über das Sogenannte Körnchenstadium bei Leptospiren. *Optik,* 5 : 564.
6. Babudieri, B., 1948, Richerche di microscopia elettronica. III. Studio del genere Leptospira. *Rend. Inst. Sup. di Sanitá,* 11 : 1046.
7. Babudieri, B., 1948, Observazioni al microscopio elettronico sulle spirochete della febre ricorrente. *Rend. Inst. Sup. di Sanità,* 11 : 1067-19.
8. Czekalowsky, J. W. & Eaves, G., 1954, Formation of granular Structures by Leptospirae as Revealed by the Electron Microscopie. *Jour. of Bact.,* 67 : 619.

Mitsuda's Reactions. Induced by BCG in the normal Rhesus ("Macacca mulatta")

por

M. J. Pereira Filho and F. Nery-Guimarães

Baccillar structural complexes are common both to *Mycobacterium tuberculosis* and *M. leprae,* with a decurrent intimate relationship in their antigenic capacity. The existence of crossed inmunity phenomena between tuberculosis and leprosy is confirmed by the verification that tuberculosis-infection and tuberculosis-disease are capable of provoking positive Mitsuda reactions. The BCG vaccine also causes the reversal of the lepromin reaction, there already existing a considerable amount of literature on the subject (1-6). The prognostic advantages of positive lepromine-reactions are well-known in leprology. Individuals with the benign, tuberculoid form of leprosy display them. So, one soon began to think about the possibility of obtaining a certain anti-leprotic protection, by mass application of BCG into the endemic areas. However, besides the objection that we do not know in view of the leprotic infection if the Mitsuda's reaction induced by BCG has the same value as the one naturally acquired, some facts have been claimed as possible interferences in the induction experiments of that reaction. In fact, even in communities not struck by leprosy, there can spontaneously occur positive Mitsuda's reactions (due to tuberculosis infections and other causes), and in the endemic leprosy areas it is difficult to securely separate the communicants, part of which react positively to lepromin. Walls and his colleagues (7) are supposed to have obtained reversals of the Mitsuda reaction with various other vaccines besides BCG, such as the anti-diphteric, anti-tetanic, etc. Blanc and others (8) are also said to have obtained reversals after the injection of a *Mycrobacterium sp.* suspension. On the other side, Paula Souza and collaborators (9) using living and died BCG and a control group, are said to have obtained reversals in 70.6% of the controls, during 11 months of observation, a rate which is superior to the percentage found among the persons that received BCG.

---

* Paper of the Instituto Oswaldo Cruz and of the Campanha Nacional Contra a Tuberculose. A note on this paper was presented at the National Tubersulosis Congress, which was held in Nov. 1953, in Curitiba. (State of Paraná).

The present paper deals with the induction of Mitsuda's reaction by BCG Vaccines.

In the here reported experiments, Rhesus monkeys reared in isolation in an attempt to avoid environmental interferences, were used.

Positive Mitsuda's reactions induced by BCG in guinea-pigs were previously reported (10).

MATERIAL AND METHODS

In the tuberculin tests (Tbn), tuberculin prepared in the Instituto Oswaldo Cruz (IOC) was used, in 1/10 dilution, 0.1 ml. being injected; for the infra-tuberculin (Itbn) tests the "extract of total BCG" of Professor Pedro Domingos (Havana-Cuba) was used, with injection of the same dosis. Lepromin was furnished by Dr. J. B. Risi, Chief of the Instituto de Leprologia, 0.1 ml. being used in the same manner. BCG vaccine from 1 to 3 days old, was obtained from the Instituto Viscondessa de Morais. The acid alcohol fast bacilli cultures were provenient from the collection of mycobacteria of the IOC (257-*Mycobacterium avium*, 258- *M. smegmatis*, and 279-*Mycobacterium sp*). The monkeys came from the IOC stock, at Pinheiro Island, situated in Manguinhos. The Rhesus were all previously tested and found negative to radiograph, tuberculin and lepromin tests. In the course of the experiments, the monkeys were weighed and X-rayed several times. The results of cutaneous tests were recorded according to the following criteria: *Mitsuda's Reaction* (M.R.): *Negative* — Absence of any lasting reaction up to 45 days. *Weakly positive* (+) = Nodule measuring up to 0.5 cm. without erythema. *Positive* (++) = Nodule measuring more than 0.5 cm. with or without erythema. *Strongly positive* (+++) = Nodule with definite erythema and necrosis. *Tbn and Itbn Reactions*: *Negative* = Absence of reaction between 48 and 96 hours. *Weakly positive* (+) = Slight erythema. *Positive* (++) = Erythema and local infiltration of 1 cm. *Strongly positive* (+++) = Papule or nodule with definite erythema, measuring more than 1 cm.

EXPERIMENTS

We have tried to observe the lepromin and tuberculin answers, after application of BCG vaccine by different via. Tests were effected *a long time after BCG* (from 7 to up and above 12 months), and also *shortly after the application of BCG* (from after a few days to above 2 months). Experiments extended over a period which went from July 1952 until August 1954.

I — *Mitsuda's Reactions effected a long time after the application of BCG*

A — On Sept. 25, 1952 two Rhesus were injected using 1 ml. (= 0,02 g) of BCG, into peritoneon (no. 1) and left testicle (No. 2), respectively. The second animal presented inflammatory reaction in the injected organ, remaining over a period of 3 weeks. On June 4, 1953 (more than 8 months after BCG application), first M.R. (left arm) and a "Itb" reaction (right arm) were effected. The following are the results of these test as well as of others carried out later on.

Rhesus No. 1

1st M.R. — On the 19th day a nodule measuring 0,5 cm could be felt, under an erythematous area, which was found to become larger during the following days, with slight ulceration. Reaction (+++). On July, 7, 1953, a biopsy was made; Histologically, a giant-histocytary nodular proliferation, characteristic of Mitsuda's reaction, was found.

Figure 1. Rhesus. Positive Mitsuda's reaction (left arm) after BCG vaccination.

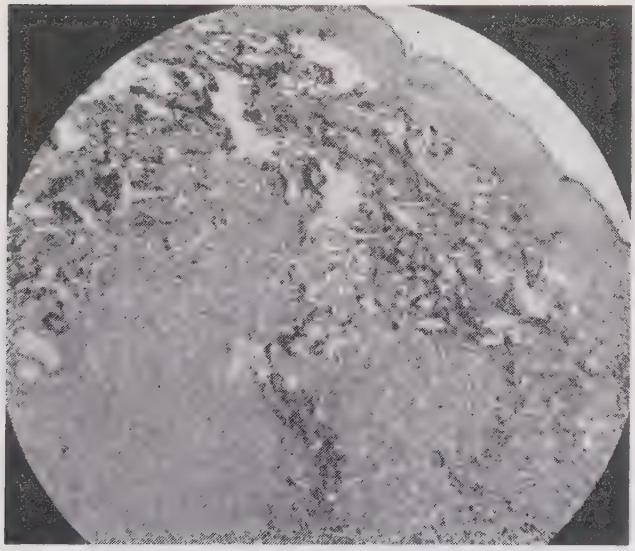


Figure 2. Section of the BCG induced Mitsuda's reaction on Rhesus. Nodular infiltration with histocytes and giant cells.

2nd M.R. — (*More than 10 months after BCG*) On August 18, 1953. After 48 hours' observation, one could observe a nodule at the point of injection (left thigh), which, with its evolution, became slightly ulcerated. Reaction (+++). On Oct. 8, 1953, the reaction entered a regression phase.

3rd M.R. — (*More than 12 months after the BCG*). On Oct. 22nd, 1953. After 48 hours, an erythematous nodule measuring 0,9 cm, could be seen at the point where the test had been effected (right side of abdomen); this one, equally, in due course, became ulcerated. Reaction (+++).

"Itbn" Reaction. After 96 hours, (++). This reaction disappeared after a few days. But, on the 20th day of observation, there appeared another non-erythematous nodule, which lasted for 11 days.

Other "Tbn" and "Itbn" Reactions (Oct. 23, 1953), were also found (++).

Rhesus No. 2

1st R.M. On the 16th day, an erythematous nodule could be observed, which, after measuring 0.8 cm started its necrosis. Reaction (+++). On July 7, 1953, a biopsy was made. Histopathology was found to be similar to that of the biopsy of Rhesus No. 1.

2nd R.M. (Aug. 18th, 1953), after 48 hours, an erythematous nodule, which in due course became ulcerated, could be seen at the place where the test was made (left thigh). Reaction (+++). On Oct. 22nd, 1953 this reaction began to recede.

3rd R.M. (Oct. 22, 1953) After 96 hours, a nodule could be felt at the point of injection (left side of abdomen), reaching a size o 0,9 cm, finally ulcerating. Reaction (+++).

"Itbn" Reaction — After 96 hours, (+++). This reaction disappeared after a few days of the test, another nodule could be felt, remaining so for 14 days.

Other "Tbn" and Itbn Reactions (Oct. 23, 1953), were also positive (+).

B — On Oct. 13, 1952. four Rhesus were given BCG orally, with the following single dosis: 0.2 g (No. 3 and No. 4), 0.6 g (No. 5) and 1.2 g (No. 6).

On June 4, 1953 (*more than 7 months after BCG*) the ist M.R., left arm) and a "Itbn" reaction (right arm) were effected. The following are the results of these tests, as well as of others subsequently effected.

Rhesus No. 3

1st M.R. — Negative.

2nd M.R. — (*More than 9 months after BCG*), effected on Aug. 18, 1953. On the 28th day a non- erythematous nodule, measuring 0.3 cm, could be felt at the point of the test. Reaction (+). By Oct. 14, 1953, this nodule began to disappear.

3rd M.R. — (*More than 11 months after BCG*) effected on Oct. 22, 1953. On the 17th day, there could be felt at the local of injection (right side of abdomen) a small nodule, similar to the preceding one, which remained for 20 days, Reaction (+).

"Itbn" Reaction — Negative.

Other "Tbn" and "Itbn" Reactions (Ort. 23, 1953). Negative.

Rhesus No. 4

1st M.R. — Negative.

2nd M.R. — Effected on Aug. 18, 1953 (right thigh). Negative. The monkey died of intercurrence before the 3rd M.R. could be effected.

"Itbn" Reaction. After 48 hours: positive (++)

Rhesus No. 5

1st M.R. — On the 43rd day, a deep sub-cutaneous nodule was felt, measuring 0.3 cm. Reaction (+), which lasted for 26 days.

2nd M.R. — Effected on Aug. 18, 1953 (right thigh). On the 28th day, a small nodule could be felt, similar to that of the preceding test. Reaction (+). On the 45th day of observation, this nodule stood out and was visible.

3rd M.R. — Effected on Oct. 22, 1953 (right side of abdomen). On the 12th day, there could be felt a deep nodule, measuring 0.5 cm, without erythema, which lasted for more than 20 days. Reaction (+).

"Itbn" Reaction. After 48 hours: (+).

Other "Tbn" and "Itbn" Reactions (Oct. 23, 1953). The first was negative, the second weakly positive (+).

Rhesus No. 6

1st M.R. — On the 28th day, a deep, non-erythematous nodule could be felt, measuring around 0.3 cm. Reaction (+). This nodule remained without alterations for more than a month.

2nd M.R. — Effected on Aug. 18, 1953 (left thigh). On the 28th day, a small nodule was felt, similar to the preceding one. Reaction (+). On September 30, 1953, a biopsy was made. Histologically, the giant-histocytary reaction, characteristic of the Mitsuda reaction, was found.

3rd M.R. — Effected on Oct. 22, 1953 (abdomen, right side). On the 17th day, a small nodule was felt, similar to the preceding one, and which lasted for more than 20 days. Reaction (+).

"Itbn" Reaction. Negative.

Other "Tbn" and "Itbn" Reactions. (Oct. 23rd, 1953) Negative.

II — *Mitsuda's reactions effected short terms after the application of BCG.*

On Aug. 12, 1953, six Rhesus received a single BCG dosis, according to the following techniques:

Rhesus No. 7: Intradermically (right arm), 0,1 cm = 0.002 g.

Rhesus No. 8: Orally, 30 cc = 0.6 g.

Rhesus No. 9: Scarifications (right arm), on one drop of the vaccine.

Rhesus No. 10: Intradermically (right arm), 0.2 cc = 0.004 g.

Rhesus No. 11: Intradermically (right arm), 0.3 cc = 0.006 g.

Rhesus No. 12: Multipunctures (right arm), on one drop of the vaccine.

Appearance and Evolution of local BCG Reactions.

All monkeys that received the vaccine by parenteral via, presented more or less intensive reaction, the following being a summary of their appearance and evolution.

Rhesus No. 7. After 48 hours, a nodule appeared which, on the 6th day, was erythematous and necrotic, measuring 0.4 cm. No noticeable changes appeared until Sept. 30, 1953, when the lesion started going back. After 2 months' observation, it still had not disappeared entirely.

Rhesus No. 9. On the 10th day a local infiltration was initiated, increasing during the following days and transforming itself into an erythematous papule measuring 0.6 cm, which lasted for a month.

Rhesus No. 10. Similar reaction to that described for Rhesus No. 7. On Aug. 20, 1953, a partial biopsy of the lesion was made. Histologically, mono-histocytary infiltration, with globia of innumerable acid alcohol fast bacilli was observed. *Rhesus No. 11.* Similar reaction, though quicker and more intensive, as the one observed in the preceding Rhesus. A total biopsy was effected on the 6th day, the same above described histologic aspect being found. *Obs.*: On that same date, Aug. 18th, 1953, a new BCG injection was effected, with the same technique and dosis (left thigh). On the 10th day, another necrotic nodule had formed, similar to the one cut off by the biopsy. This lesion lasted 2 months.

Rhesus No. 12. On the 4 day, a deep nodule could be felt, which increased rapidly and became definitely erythematous. On Aug. 21, 1953, necrosis and fistulization started in, eliminating caseous material. The tumour came to measure 2x2 cm. It had almost 3 months' duration.

Mitsuda, Tbn and Itb Reactions.

On August 18, 1953, (6 days after the application of BCG), the 1st M.R. was made (left arm). The following are the results of this test, as well as of others subsequently effected.

Rhesus No. 7

1st M.R. On the 41st day, a small, deep nodule, measuring 0.3 cm. and without erythema was felt. Reaction (+). This nodule remained unaltered until the animal's death (on Oct. 14th, 1953), due to intercurrence.

Itbn Reaction (on Sept. 30th, 1953), Positive (+) in 48 hours.

Rhesus No. 8

1st M.R. — On the 27th day, a nodule similar to the one described for Rhesus No. 7 could be felt. Reaction (+). In Sept. 30th, the biopsy was made. Histologically, it presented the structure typical for Mitsuda's reaction.

2nd M.R. — Effected on Oct. 19th, 1953 (abdomen, right side). After 48 hours, a small, protuberating nodule, measuring 0.5 cm, could be felt. Reaction (+). This reaction lasted for more than 20 days. This test was effected more than 2 months after the BCG application.

Itbn Reaction — (Sept. 30th, 1953). Negative.

Itb and Tbn Reactions — (Oct. 23rd., 1953). Negative.

Rhesus No. 9

1st M.R. On the 15th day, a deep, non-erythematous nodule, measuring 0.3 cm, could be felt. Reaction (+). This reaction continued for more than 30 days.

2nd M.R. — Effected on Oct. 19, 1953 (abdomen, right side). After 48 hours, a nodule measuring 0.4 cm and similar to the preceding one could be felt. Reaction (+). This reaction lasted for more than 20 days.

Itbn Reaction — (Sept. 30th, 1953). Positive (+), after 48 hours.

Tbn and Itbn Reactions. — October 23, 1953. The first was negative and the second, positive. (+).

Rhesus No. 10

1st M.R. — On the 9th day, a small nodule could be felt at the place of injection, on the whole similar to the ones described in this series. Reaction (+). This nodule persisted up to the animal's death, due to intercurrence (on Sept. 4th, 1953). Histologically, a structure similar to the one described for Rhesus No. 8 was found.

Rhesus No. 11

1st M.R. — On the 10th day, a nodule could be felt, which became protuberant and erythematous, attaining a diameter of 0.6 cm. Reaction (++). On Sept. 30th, 1953, the biopsy was effected, the giant-histocytary reaction characteristic of the Mitsuda reaction was found.

2nd M.R. — Effected on Oct. 19th, 1953 (abdomen, right side). After 48 hours, it was possible to observe an erythematous nodule, measuring 0,6 cm on the 15th day of the test [Reaction (++)] which extended over a period of more than 20 days.

Eight Mitsuda's reactions observed in 8 different Rhesus monkeys were biopsed and studied histopathologically. Two were found strongly positive (+++), and 6 weakly positive (+). Amoung all of them, macroscopically, reactional graduations were observed. But, from the microscopic point of view, the differences were of a quantitative nature only, with a regular repetition of the giant-histocytary structure. In the two cases with necrosis, of course, the inflamatory infiltration covered the typical histologic lesions, more or less extensively. But at a distance from the ulcerated zone, however, epithelioid and giant cells were organised in nodules, in a very characteristic manner.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The reversals of Mitsuda's reactions induced by BCG have been objected to based on the possible interference of other determination causes of the phenomenon: tuberculous primo-infections, communicants of unsuspected leprosy, revearsals due to other causes, such as anti-diphteric and anti-tetanic vaccination, etc.

In order to study the problem, we have used Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), which were reared in isolation, in an attempt to avoid the referred to interferences. Prior to the experiments, all animals were tested and found negative to radiograph, tuberculin and lepromin tests and were then submitted to the application of BCG vaccine (from 1 to 3 days old), in different doses and by different via.

At different times, after the application of BCG, they were again submitted to the radiographic, tuberculin and lepromin tests. In the tables I to IV the experiences were summarised.

TABLE I

Mitsuda's reactions on Rhesus long time after BCG vaccine.

RHESUS NUMBERS	Via and dosis of BCG vaccine	MITSUDA'S REACTIONS					
		1st		2nd		3rd	
		Time elapsed after BCG	Results (days)	Time elapsed after BCG	Results (days)	Time elapsed after BCG	Results (days)
1	Peritoneal 0.02 g	More than 8 months	+++ (19)	More than 10 months	+++ (2)	More than 12 months	+++ (2)
2	Testicular 0.02 g	»	+++ (16)	»	+++ (2)	»	+++ (4)
3	Oral 0.2 g	More than 7 months	Negative	More than 9 months	+ (28)	More than 11 motnhs	+ (17)
4	Oral 0.2 g	»	Negative	»	Negative	+	
5	Oral 0.6 g	»	+ (43)	»	+ (28)	»	+ (12)
6	Oral 1.2 g	»	+ (28)	»	+ (28)	»	+ (17)

† = Dead of the Rhesus
\+ = weakly positive reaction.
++ = positive reaction.
+++ = strongly positive reaction.

TABLE II

Mitsuda's reactions on Rhesus short time after BCG vaccine.

RHESUS NUMBERS	Via and dosis of BCG vaccine	MITSUDA'S REACTIONS			
		1st		2nd	
		Time elapsed after BCG	Results (days)	Time elapsed after BCG	Results (days)
7	Intradermic 0.002 g	6 days	+ (41)	+	
8	Oral 0.6 g	»	+ (27)	2 months	+ (2)
9	Scarifications (drop)	»	+ (15)	»	+ (2)
10	Intradermic 0.004 g	»	+ (9)	+	
11	Intradermic 0.006 g	»	++ (10)	»	++ (2)
12	Multipunctures (drop)	»	+ (21)	»	+ (2)

† = Dead of the Rhesus
\+ = weakly positive reaction.
++ = positive reaction.

TABLE III

Mitsuda's reactions on Rhesus after died BCG vaccines and other living mycobacteria. (Control group).

RHESUS NUMBERS	Via and dosis of died BCG and of other mycobacteria	MITSUDA'S REACTIONS					
		1st		2nd		3rd	
		Time elapsed after...	Results (days)	Time elapsed after...	Results (days)	Time elapsed after...	Results (days)
13	Died BCG Intradermic 0.006 g	10 days	+ (30)	1.5 month	+ (2)	4 Months	(2) (2)
14	**Mycobacterium sp.** Intradermic 0.3 ml	»	Negative	»	Negative	+	
15	**M. avium** Intradermic 0.3 ml	»	Negative		+		
16	**M. smegmatis** Intradermic 0.3 ml	»	Negative	2.5 months	Negative	+	
17	Died BCG Oral 1.2 g	»	+ (39)	2 months	+ (2)	+	

† = Dead of the Rhesus + = weakly positive reaction.

TABLE IV

Comparisons of lepromin and tuberculin, reactions on Rhesus after the application of BCG.

RHESUS Numbers	BCG via	REACTIONS				
		Lepromin			Tuberculin	
		1st	2nd	3rd	1st	2nd
1	P	+++	+++	+++	++	++ (++)
2	T	+++	+++	+++	+++	+ (+)
3	O	–	+	+	–	– (–)
4	O	–	–		++	
5	O	+	+	+	+	– (+)
6	O	+	+	+	–	– (–)
7	I	+			+	
8	O	+	+		–	– (–)
9	E	+	+		+	– (+)
10	I	+			+	
11	I	++	++		–	– (+)
12	M	+	+		+	– (+)
13	I	+	+	+		– (–)
17	O	+	+		– (–)	– (–)

Legend:
P = Peritoneal
T = testicular
O = oral
I = intradermal
E = escarifications
M = multipunctures

† = Dead of the Rhesus
— = negative
+ = weakly positive
++ = positive
+++ = strongly positive
( ) = Itbn

From the experiments, the following conclusions were reached:

1 — From 12 Rhesus that received BCG 11 showed reversals of the Mitsuda reaction (91.7%).

2 — These reverseals took place both in tests effected *shortly after BCG* (from 6 days to 2 months), and tests effected *much later* (from 7 to 12 months after BCG)

3 — Some differences were found in the results, according to the dosis and the application via of the BCG.

a) — The *testicular* and *peritoneal* via (0,02g) were the only that determined strong positive Mitsuda's reactions(+++).

b) — By *oral via,* animals that received high dosis (0.6g and 1.2 g), there resulted uniform and regular reversals, even though of low intensity (+); but from those who got small doses (0.2 g.) one showed no reversals in all tests, and the other presented reversals in the 2nd and 3rd tests only, also with low positivity (+).

c) — By *intradermic via,* in Rhesus which received higher doses, (0.004 g and 0.006 g), reversals was more rapid (9 and 10 days), and the more intensive positivity (++) corresponded to the higher doses.

d) — The Rhesus that received BCG by means of *scarifications* and *multipunctures* also presents reversals with low positivity (+).

4) In the 2nd and 3rd Mitsuda's reactions in the same animals, positivity was always precocious (generally within 48 hours), one getting the impression that there occurs a sensibilization of the animal body by the antigen with the repetition of the tests, even though the intensity of the reaction always remains the same. This precocious reaction (Fernandez type) occurs both shortly and long time after the application of the BCG.

Its precocity depends not of the antigen only because the first Mitsuda's reaction after the BCG application occurs after some time and seems not influenced by the control lepromin test effected on the Rhesus before the BCG.

5) On the *control group,* the animals which received a.a.f. bacilli suspensions (*Mycobacterium sp.; M. avium,* and *M. smegmatis*), *did not show reverseals of the Mitsuda's reaction.* Two Rhesus, however, which received dead BCG (120°C autoclave 1 hour), one intradermically (0.006 g) and the other orally (1.2 g), did both present reversals of the Mitsuda's reaction, with weak positivity (+). In all animals of the control-group, the allergic reactions were found negative.

6) Strong local inflammatory reactions were observed in the Rhesus that had received living BCG by *intradermal via,* and in the one submitted to *multipunctures,* there occurred the formation of a large caseous abcess.

7) The allergic tuberculinic and infratuberculinic reactions appeared dissociated from the Mitsuda's reactions: sometimes they are

more precocious, occurring before of the lepromin test; on other occasions they disappear, when the Mitsuda's reactions still persist; and finally, they may be absent, when the latter occur, especially after the oral application of the BCG.

8) In Rhesus which received BCG by *testicular and peritoneal via,* in the infratuberculinic test (0.1 ml of total BCG extract), besides the classic answer, which occurs between 48 and 96 hours, one could observe a delayed answer (15 to 20 days), represented by a non-erythematous nodule, which persists for 11-14 days.

BIBLIOGRAFIA

1. Fernandez, J.M.M., 1939, Estúdio comparativo de la reacion de Mitsuda con las reaciones tuberculínicas. *Rev. Argent. Dermatosif.,* 23 : 425.
2. Ginés, A.R. & Poletti, J.G., 1945, La reacion de Mitsuda en los vacunados con BCG. *Hoja Tisiologica,* 5 : 284.
3. Azulay, R.D., 1948, A ação do BCG sôbre a reação lepromínica. *O Hospital,* 34 : 853.
4. Chaussinand, R., 1948, Premunition relative anti-lepreuse par la vaccination au BCG. *I. Cong. Intern. du BCG.* Paris.
5. Rosemberg, & Coll., 1953, Estado atual do conhecimento da inversão da reação de Mitsuda por efeito do BCG oral. *O Hospital,* 44(1) : 33. (Trabalho incluindo o assunto de dez outros anteriores dos AA sôbre o mesmo tema).
6. Souza Campos, N., 1951, A reversibilidade da lepromino-reação pelo BCG. Seu valor profilático. Estudo do educandário Santa Terezinha. *III Conf. Panamericana de Lepra.* Buenos Aires. (Cópia).
7. Walls, F.D. & Coll., 1951, Influência de la BCG y otras vacunas en la lepromino-reación. *Actas Dermosifilográficas,* Madrid, 42 : 505.
8. Blanc, M. & Coll., 1953, Influence de l'injection d'une suspension d'un mycobacterium isolé d'un cas de lèpre (souche Chauviré) sur la reaction de Mitsuda. *Bull. Soc. Path. Exot.,* 46(6) : 1009.
9. Paula Souza, R. & Col., 1953, Influencia do BCG vivo e morto sôbre a reação de Mitsuda. (Observações preliminares). *Rev. Brasil. Leprol.,* 21(1) :43.
10. Azulay, R.D., 1953, A viragem da lepromino-reação pela administração do BCG. *VI Cong. Intern. de Leprologia,* Madrid. Adicion al Livro de Resumenes. Pg. 22-23.